

**DAYA ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK BUAH MANGROVE *Cerriops  
decandra* DENGAN MENGGUNAKAN VARIASI PELARUT**

**SKRIPSI  
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**Oleh :  
SULISTIAWATI  
NIM. 125080301111037**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2017**

**DAYA ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK BUAH MANGROVE *Cerriops  
decandra* DENGAN MENGGUNAKAN VARIASI PELARUT**

**SKRIPSI  
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan  
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
Universitas Brawijaya

Oleh :  
**SULISTIAWATI**  
**NIM. 125080301111037**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG**

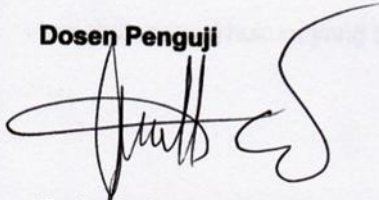
SKRIPSI

**DAYA ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK BUAH MANGROVE *Cerriops decandra* DENGAN MENGGUNAKAN VARIASI PELARUT**

Oleh :  
**SULISTIAWATI**  
NIM. 125080301111037

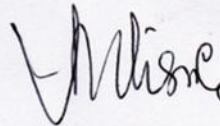
telah dipertahankan didepan penguji  
pada tanggal 7 April 2017  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Penguji



**Dr. Ir. Anies Chamidah, MP**  
NIP. 19640912 19902 2 001  
Tanggal: 23 MAY 2017

Menyetujui,  
Dosen Pembimbing 1



**Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP**  
NIP. 19581231 198601 2 002  
Tanggal: 23 MAY 2017

Dosen Pembimbing 2



**Dr. Ir. Bambang Budi S., MS**  
NIP. 19570119 198601 1 001  
Tanggal: 23 MAY 2017



Mengetahui,  
Ketua Jurusan  
Manajemen Sumberdaya Perairan  
**Dr. Ir. Arning Wilujeng E., MS**  
NIP. 19620805 198603 2 001  
Tanggal: 23 MAY 2017

## **PERNYATAAN ORISINALITAS**

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar – benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis oleh naskah ini dan disebut dengan daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 1 Januari 2017

Mahasiswa

Sulistiawati

## UCAPAN TERIMA KASIH

Atas terselesaikan Laporan Skripsi ini penulis menyampaikan terima kasih sedalam-dalamnya kepada :

- Dr. Ir. TitikDwiSulistiyati, MP dan Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS selaku Dosen Pembimbing, yang telah banyak memberikan pengarahan serta bimbingan sejak penyusunan usulanpenelitian skripsi sampai dengan selesainya penyusunan usulan skripsi ini.
- Kepada keluarga yang selalu memberikan doa dan dukungan selama penyusunan usulan skripsi ini.
- Serta seluruh pihak yang telah membantu terselesaikannya usulan skripsi, yang tidak bisa disebutkan satu-persatu, saya ucapkan terima kasih.

Dengan segala keterbatasan kemampuan dan kerendahan hati, semoga Laporan Skripsi ini bermanfaat dan dapat memberikan informasi bagi pembaca. Amin.

Malang,

Penyusun

## RINGKASAN

**SULISTIAWATI.** Skripsi tentang Daya Aktivitas Antioksidan Dari Buah Mangrove *Cerriops decandra* dengan Menggunakan Variasi Pelarut yang berbeda. dibawah Bimbingan **Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP** dan **Dr. Ir. Bambang Budi S., MS**

---

Radikal bebas merupakan suatu senyawa kimia yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada kulit terluarnya, sehingga sangat reaktif mencari pasangan dengan cara mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya. Radikal bebas dapat mengoksidasi asam nukleat, protein, lemak, bahkan DNA sel dan menginisiasi timbulnya penyakit degeneratif. Adanya pengaruh radikal bebas yang tidak baik bagi kesehatan tubuh, maka tubuh memerlukan suatu komponen penting yang dapat menangkal serangan radikal bebas. Komponen yang dapat menyelamatkan sel-sel dari bahaya radikal bebas adalah antioksidan (Rohmatussolihah, 2009).

Ekstraksi adalah proses pemisahan satu atau beberapa bahan dari suatu padatan atau cairan dengan menggunakan bantuan pelarut (Novia *et al.*, 2009). Pada prinsipnya ekstraksi menggunakan pelarut dilakukan dengan cara mempertemukan bahan yang akan diekstraksi dengan pelarut selama waktu tertentu, diikuti pemisahan filtrat dari residu bahan yang diekstrak. Ekstraksi dengan menggunakan pelarut seperti etanol, metanol, etil asetat, N-heksan dan air mampu memisahkan senyawa-senyawa yang penting dalam suatu bahan. Ekstraksi dapat dilakukan dengan satu tahap maupun bertingkat. Pada ekstraksi satu tahap hanya digunakan satu jenis pelarut untuk ekstraksi, sedangkan pada ekstraksi bertingkat digunakan dua atau lebih pelarut secara bergantian. Ekstraksi bertingkat digunakan untuk mendapatkan komponen yang lebih murni (Septiana dan Asnani, 2012).

Proses maserasi bertingkat untuk pola yang pertama yaitu ditimbang sebanyak 150g buah mangrove *cerriops decandra* yang sudah dihaluskan kemudian dimaserasi dalam 600 mL pelarut N-heksan dengan perbandingan 1:4 (b/v) dan dihomogenkan dengan *magnetic stirer* selama 24 jam. Setelah 24 jam residu dan filtrat dipisahkan melalui proses penyaringan dengan menggunakan kertas saring. Residu dari pelarut N-heksan kemudian dimaserasi dengan pelarut etil asetat sebanyak 600 mL dan dihomogenkan dengan *magnetic stirer* selama 24 jam, dilakukan proses penyaringan dengan menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residu. Residu dari pelarut etil asetat dimaserasi dengan pelarut etanol sebanyak 600 mL kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirer* selama 24 jam. Setelah 24 jam dilakukan proses penyaringan dengan menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residu. Filtrat yang dihasilkan dari masing-masing pelarut kemudian dipisahkan dari pelarutnya dengan cara diuapkan menggunakan *rotary vacum evaporator* dan ditiup dengan menggunakan gas nitrogen (N<sub>2</sub>) sehingga didapatkan ekstrak pekat buah mangrove *Cerriops decandra*.

Proses maserasi bertingkat untuk pola yang kedua, yaitu sampel buah mangrove *Cerriops decandra* sebanyak 150g dimaserasi dengan pelarut etanol perbandingan 1:4 (b/v) kemudian dihomogenkan menggunakan *magnetic stirer*

selama 24 jam. Setelah 24 jam dilakukan proses penyaringan untuk memisahkan filtrat dan residu dengan menggunakan kertas saring. Residu dari pelarut etanol dimaserasi dengan pelarut etil asetat sebanyak 600 mL kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* selama 24 jam. Setelah 24 jam filtrat dan residu dipisahkan dengan menggunakan kertas saring. Residu dari pelarut etil asetat dimaserasi dengan pelarut N-heksan sebanyak 600 mL dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* selama 24 jam. Kemudian setelah 24 jam dilakukan proses penyaringan dengan menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residu. Filtrat yang dihasilkan dari masing-masing pelarut kemudian dipisahkan dari pelarutnya dengan cara diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dan ditiup dengan menggunakan gas nitrogen ( $N_2$ ) sehingga didapatkan ekstrak pekat buah mangrove *Cerriops decandra*.

Antioksidan ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* dengan hasil tertinggi didapat oleh ekstrak etanol dengan pola perlakuan non – polar ke polar dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 78,863 ppm yang termasuk kedalam tingkat antioksidan kuat. Total fenol ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* hasil tertinggi didapat oleh ekstrak etanol dengan pola perlakuan non – polar ke polar dengan nilai 801,562

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur pada Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat, rezeki serta karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi dengan judul Daya Antioksidan dari Buah mangrove *Cerriops decandra* dengan Menggunakan Variasi Pelarut Berbeda.

Penulis sadar bahwa laporan ini masih jauh dari kata sempurna baik dalam penyusunan laporan skripsi dan lain sebagainya. Oleh karena itu, segala kritik, saran serta masukan yang membangun akan sangat diharapkan demi kesempurnaan laporan skripsi ini agar nantinya bermanfaat bagi orang lain yang membutuhkan.

Malang, 1 Januari 2017

Penulis



## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL.....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>PERNYATAAN ORISINALITAS.....</b>	<b>iv</b>
<b>UCAPAN TERIMA KASIH.....</b>	<b>v</b>
<b>RINGKASAN.....</b>	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiii</b>
 <b>1. PENDAHULUAN.....</b>	 <b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Hipotesis .....	4
1.5 Kegunaan Penelitian .....	4
1.6 Waktu dan Tempat.....	5
 <b>2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	 <b>6</b>
2.1 Mangrove .....	6
2.2 <i>Cerriops decandra</i> .....	6
2.4 Pelarut.....	9
2.4.1 N-Heksan .....	10
2.4.2 Etil Asetat.....	11
2.4.3 Etanol.....	11
2.4.4 Metanol .....	12
2.5 Radikal Bebas .....	13
2.6 Antioksidan .....	14
2.6.1 Fungsi Antioksidan .....	14
2.6.2 Sumber Antioksidan .....	14
2.6.2.1 Antioksidan Sintetik atau Buatan.....	15
2.6.2.2 Antioksidan Alami .....	15
2.7 Uji Aktivitas Antioksidan .....	15
2.7.1 DPPH .....	16
2.7.2 Vitamin C .....	17
2.8 Senyawa Fitokimia .....	18
2.8.1 Alkaloid .....	18
2.8.2 Flavonoid .....	19
2.8.3 Steroid dan Triterpenoid.....	20
2.8.4 Saponin.....	20
2.8.5 Tanin.....	21
2.8.6 Polifenol .....	22
2.9 Spektrofotometer UV-VIS.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.10 LC-MS (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry) .....	22
 <b>3 METODE PENELITIAN .....</b>	 <b>24</b>
3.1 Materi Penelitian .....	24
3.1.1 Bahan Penelitian .....	24

3.1.2	Alat Penelitian .....	24
3.2	Metode Penelitian .....	25
3.2.1	Variabel Penelitian .....	25
3.2.2	Rancangan Penelitian .....	26
3.2.3	Parameter Uji .....	27
3.3	Prosedur Penelitian Pendahuluan .....	28
3.3.1	Ekstraksi buah mangrove <i>Cerriops decandra</i> (Modifikasi Septiana dan Asnani, 2012 dengan Naufalin <i>et al.</i> , 2005) .....	28
3.3.2	Uji Fitokimia.....	31
3.3.2.1	Alkaloid (Modifikasi Harborne, 1987 dan Nafisah <i>et al.</i> , 2014) ..	31
3.3.2.2	Flavonoid (Modifikasi Nafisah <i>et al.</i> , 2014 dan Sangi <i>et al.</i> , 2008) .....	32
3.3.2.3	Steroid atau Triterpenoid (Modifikasi Nafisah <i>et al.</i> , 2014 dan Sangi <i>et al.</i> , 2008).....	32
3.3.2.4	Saponin (Harborne, 1987).....	33
3.3.2.5	Tanin (Harborne, 1987).....	34
3.3.3	Identifikasi Senyawa Bioaktif Menggunakan LC-MS ( <i>Liquid Chromatography-Mass Spectrometry</i> ) (Modifikasi Lisdiawati <i>et al.</i> , 2007).....	34
3.3.4	Parameter yang Diamati.....	35
3.3.4.1	<i>Rendemen</i> (Jannah <i>et al.</i> , 2014).....	35
3.3.4.2	<i>Uji Aktivitas Antioksidan</i> (Modifikasi Rohimat <i>et al.</i> , 2014 dan Wikanta <i>et al.</i> , 2010).....	35
3.4	Analisis Data .....	38
3.5	Total Fenol .....	38
<b>4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>42</b>
4.1	Penelitian Pendahuluan .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.1.1	Ekstraksi Buah Mangrove <i>Cerriops decandra</i> . <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
4.1.2	Fitokimia Ekstrak Buah Mangrove <i>Cerriops decandra</i> .....	44
4.2	Penelitian Utama.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.2.1	Kadar Air Ekstrak Buah Mangrove <i>Cerriops decandra</i> .....	47
4.2.2	Total Fenol Ekstrak Tepung Buah Mangrove <i>Cerriops decandra</i> ....	48
4.2.3	Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tepung Buah Mangrove <i>Cerriops decandra</i> .....	50
4.2.4	Hubungan Total Fenol dengan Aktivitas Antioksidan.....	52
4.2.5	Analisis Liquid Chromatograph Mass Spectrofotometry Buah Mangrove <i>Cerriops decandra</i> .....	54
<b>5.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>56</b>
5.1	KESIMPULAN .....	56
5.2	SARAN.....	57
	<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>58</b>
	<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>63</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Buah Mangrove <i>Cerriops decandra</i> (Dokumentasi Pribadi, 2016 ) .....	7
2. Proses Ekstraksi Buah Mangrove <i>Cerriops decandra</i> .....	30
3. Skema Uji Alkaloid .....	31
4. Skema Kerja Uji Flafonoid .....	32
5. Skema Kerja Uji Steroid .....	33
6. Skema Kerja Uji Saponin .....	33
7. Skema Kerja Uji Tanin .....	34
8. Skema Kerja Uji Aktivitas Antioksidan .....	37
9. Skema Pembuatan Kurva Asam Galat .....	39
10. Skema Pengujian Total Fenol Ekstrak Buah Mangrove <i>Cerriops decandra</i> ..	40
11. Skema Analisis Senyawa Bioaktif Menggunakan LC-MS .....	41
12. Nilai Rendemen .....	43
13. Persamaan Reaksi Uji Alkaloid dengan Pereaksi Mayer .....	45
14. Rata-rata Total Fenol Ekstrak Tepung Buah Mangrove <i>Cerriops decandra</i> ..	48
15. Hasil Uji Antioksidan Ekstrak Tepung Buah Mangrove <i>Cerriops decandra</i> ....	51

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1.Konstanta Dielektrikum Bahan-bahan Pelarut .....	10
2. Sifat Fisika dan Kimia N-heksan.....	10
3.Sifat Fisika dan Kimia Etil Asetat.....	11
4.Sifat Fisika dan Kimia Etanol .....	12
5. Sifat Fisika dan Kimia Metanol .....	13
6.Rancangan Penelitian Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak .....	27
7.Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Buah Mangrove <i>Cerriops decandra</i> .....	44
8. Kadar Air Tepung Buah Mangrove Cerriops decandra.....	47
9.Hubungan Total Fenol dan IC50 Antioksidan Ekstrak Tepung Buah Mangrove <i>Cerriops decandra</i> .....	53
10. Hasil Identifikasi Kromatogram Ekstrak Etil Asetat Tepung Buah Mangrove <i>Cerriops decandra</i> .....	54

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Proses Ekstraksi (Masuda,2001) .....	63
2. Skrining Fitokimia (Harborne, 1987) .....	65
3. Skema Uji Aktivitas Antioksidan (Modifikasi Rohimat <i>et al.</i> , 2014 dengan Wikanta <i>et al.</i> , 2010) .....	68
4. Perhitungan Pembuatan larutan DPPH 0,1 mM, Konsentrasi Larutan Uji Antioksidan dan Konsentrasi Larutan Vitamin C .....	69
5. Rancangan Penelitian, Data Hasil Perhitungan dan ANOVA (Analysis of Variance) Rendemen Ekstrak Buah Mangrove <i>Cerriops decandra</i> Rancangan Penelitian, Data Hasil Perhitungan dan ANOVA (Analysis of Variance) Rendemen Ekstrak Buah Mangrove <i>Cerriops decandra</i> .....	72
6. Hasil Uji Larutan Standar Asam Galat Serta Kurva Kalibrasi Asam Galat .....	75
7. Data Hasil Perhitungan dan ANOVA (Analysis of Variance) Uji Total Fenol Ekstrak Buah Mangrove <i>Cerriops decandra</i> .....	76
8. Data Hasil Perhitungan dan ANOVA (Analysis of Variance)Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Mangrove <i>Cerriops decandra</i> .....	79
9. Hasil Identifikasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Etanol Buah Mangrove <i>Cerriops decandra</i> .....	92
10. Dokumentasi Penelitian .....	94

## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Pola hidup tidak sehat dalam kehidupan sehari-hari menyebabkan berbagai penyakit salah satunya disebabkan oleh radikal bebas. Makanan yang digoreng, makanan instan, asap rokok, paparan sinar matahari berlebih, obat-obat tertentu, racun dan polusi udara merupakan beberapa sumber pembentuk senyawa radikal bebas (Wijaya *et al.*, 2014).

Radikal bebas merupakan suatu senyawa kimia yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada kulit terluarnya, sehingga sangat reaktif mencari pasangan dengan cara mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya. Radikal bebas dapat mengoksidasi asam nukleat, protein, lemak, bahkan DNA sel dan menginisiasi timbulnya penyakit degeneratif. Adanya pengaruh radikal bebas yang tidak baik bagi kesehatan tubuh, tubuh memerlukan suatu komponen penting yang dapat menangkal serangan radikal bebas. Komponen yang dapat menyelamatkan sel-sel dari bahaya radikal bebas adalah antioksidan (Rohmatussolihah, 2009).

Antioksidan adalah suatu senyawa kimia yang dapat mencegah dan menghambat terjadinya reaksi radikal bebas dalam tubuh (Pramesti, 2013). Tubuh manusia tidak mempunyai cukup cadangan antioksidan, sehingga jika terjadi paparan radikal bebas berlebih dalam tubuh maka tubuh membutuhkan antioksidan dari luar tubuh (eksogen) (Martiningsih *et al.*, 2014). Asupan antioksidan dari luar (eksogen) sangat dibutuhkan oleh tubuh untuk menyeimbangkan jumlah antioksidan dan radikal bebas dalam tubuh. Antioksidan diluar tubuh (eksogen) dapat diperoleh dari bahan makanan, misalnya vitamin E, vitamin C, betakaroten dan senyawa flavonoid yang

diperoleh dari tanaman atau tumbuhan (Syukur *et al.*, 2011). Salah satu sumber antioksidan eksogen adalah mangrove.

Senyawa yang mampu berperan sebagai antioksidan adalah fenolik dan flavonoid yang termasuk antioksidan alami yang lebih efektif sebagai senyawa antioksidan. Antioksidan asam fenolat, polifenol, dan flavonoid dapat menghambat radikal peroksida, hidroperoksida, dan menghambat mekanisme oksidatif sehingga mencegah penyakit degenerative, selain itu berguna sebagai anti tumor dan mempunyai efek pencegahan pada kerusakan hati (Maria *et al.*, 2014)

Ekstraksi adalah proses pemisahan satu atau beberapa bahan dari suatu padatan atau cairan dengan menggunakan bantuan pelarut (Novia *et al.*, 2009). Pada prinsipnya ekstraksi menggunakan pelarut dilakukan dengan cara mempertemukan bahan yang akan diekstraksi dengan pelarut selama waktu tertentu, diikuti pemisahan filtrat dari residu bahan yang diekstrak. Ekstraksi dengan menggunakan pelarut seperti etanol, metanol, etil asetat, heksan dan air mampu memisahkan senyawa-senyawa yang penting dalam suatu bahan. Ekstraksi dapat dilakukan dengan satu tahap maupun bertingkat. Pada ekstraksi satu tahap hanya digunakan satu jenis pelarut, sedangkan pada ekstraksi bertingkat digunakan dua atau lebih pelarut secara bergantian. Ekstraksi bertingkat digunakan untuk mendapatkan komponen yang lebih murni (Septiana dan Asnani, 2012).

Pemilihan pelarut yang akan dipakai dalam proses ekstraksi harus memperhatikan sifat kandungan senyawa yang akan diisolasi misalnya polaritas. Pada dasarnya suatu bahan akan mudah larut dalam pelarut yang sama polaritasnya (Sudarmadji *et al.*, 1989). Pada prinsipnya senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan senyawa non polar akan larut dalam pelarut non polar (Arifianti *et al.*, 2014). Ekstraksi dengan pelarut yang berbeda

umumnya dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan. Hasil penelitian Lailiyah *et al.* (2014), menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah mangrove *Cerriops decandra* memiliki nilai kapasitas antioksidan yang tinggi dibandingkan dengan ekstrak N-heksan. Pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan menggunakan metode DPPH.

Penelitian mengenai aktivitas antioksidan pada ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* dengan menggunakan satu jenis pelarut telah banyak diteliti, namun aktivitas antioksidan pada ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* yang diekstraksi secara bertingkat dengan menggunakan variasi pelarut berbeda belum ditemukan dalam penelitian. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* dengan variasi pelarut yang berbeda.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Senyawa bioaktif apa saja yang berperan dalam ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* dengan menggunakan variasi pelarut ?
2. Bagaimana perbedaan aktivitas antioksidan dari ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* dengan pola perlakuan berbeda dan variasi pelarut ?
3. Bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* dengan menggunakan variasi pelarut ?



### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui senyawa bioaktif apa saja yang terkandung dalam ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* dengan menggunakan variasi pelarut.
2. Untuk mengetahui bagaimana perbedaan aktifitas antioksidan dari ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* dengan pola perlakuan berbeda dan variasi pelarut.
3. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* dengan menggunakan variasi pelarut.

### 1.4 Hipotesa

Hipotesa dari penelitian ini adalah:

1. Terdapat senyawa bioaktif sebagai antioksidan yang terkandung dalam ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* dengan menggunakan variasi pelarut yang berbeda.
2. Terdapat senyawa bioaktif yang berbeda yang berperan sebagai antioksidan dalam buah mangrove *Cerriops decandra* dengan pola perlakuan berbeda dan variasi pelarut.
3. penggunaan variasi pelarut yang berbeda berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* dengan menggunakan variasi pelarut berbeda.

### 1.5 Kegunaan Penelitian

Penelitian diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat, lembaga, dan instansi lain mengenai potensi mangrove *Cerriops decandra* sebagai antioksidan alami.

## **1.6 WaktudanTempat**

Penelitian dilaksanakan pada tanggal 25 Agustus – 1 Desember 2016 di Laboratorium Perekayasaan Hasil Perikanandan Laboratorium Kimia Universitas Muhamaddiyah Malang dan LIPI Tangerang.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Mangrove

Tumbuhan mangrove di Indonesia ialah yang terbanyak di dunia, baik dari segi kuantitas area (+ 42.550 km<sup>2</sup>) maupun jumlah species (+ 45 species). Mangrove mempunyai banyak sekali manfaat. Walaupun demikian spesies ini memiliki potensi yang cukup besar dalam penyediaan sektor pangan maupun non pangan, tetapi pemanfaatannya belum secara optimal. Diversifikasi bahan baku untuk sektor non pangan khususnya asosiasi mangrove yang memiliki potensi untuk dikembangkan adalah *Cerriops decandra* (Manek, 2014).

### 2.2 *Cerriops decandra*

Dari hasil survey dipantai prigi Trenggalek di dapatkan hasil bahwa ada beberapa jenis mangrove yang tumbuh dan di jadikan area konservasi salah satunya adalah mangrove *Cerriops decandra* dimana mangrove ini memiliki kandungan antioksidan yang tinggi yaitu pada buah mangrove *Cerriops decandra*.

Mangrove *Cerriops decandra* memiliki ciri – cirri pohon dengan ketinggian 15 m. kulit kayu berwarna coklat, jarang berwarna abu – abu atau putih, permukaan halus dan menggelembung di bagian pangkal. Buah berbentuk silinder hipokotil, ujungnya menggelembung tajam dn berbintil, warna hijau hingga coklat, leher kotilodon jadi merah tua jika sudh matang. Ukuran dengan panjang 15 cm dan diameter 8 – 12 mm ( Andi, 2010 ). Buah mangrove *Cerriops decandra* dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.**Buah Mangrove *Cerriops decandra* (Dokumentasi Pribadi, 2016 )

Adapun klasifikasi mangrove *Cerriops decandra* menurut (widjako, 2011)

sebagai berikut :

Klasifikasi Kingdom : Plantae  
 Sub kingdom : Tracheobionta  
 Divisi : Magnoliophyta  
 Super divisi : Spermatophyta  
 Class : Magnoliopsida  
 Sub class : Rosidae  
 Ordo : Myrtales  
 Famili : Rhizophoraceae  
 Genus : Cerriops  
 Spesies : *Cerriops decandra*

Mangrove *Cerriops decandra* memiliki nama Indonesia bido-bido, palun, parun, tingi, tangar, dan tengal. Mangrove ini tumbuh tersebar di sepanjang hutan mangrove, tetapi lebih umum pada bagian daratan dari perairan pasang surut dan berbatasan dengan tambak pantai. Hidup pada substrat pasir atau lumpur (Manek, 2014)

Ekstrak metanol buah mangrove *Cerriops decandra* memiliki nilai  $IC_{50}$  58,33  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  berdasarkan hasil penelitian Suganthy dan Pandima (2015). Menurut Ravikumar dan Gnanadesigan (2012), ekstrak daun mangrove *Cerriops*

*decandra* mengandung antioksidan dengan konsentrasi inhibisi 47,39  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  melalui uji DPPH saat nilai penghambatan vitamin C 2,87  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . Berdasarkan literatur tersebut maka dilakukan penelitian daya aktifitas antioksidan menggunakan buah mangrove *Cerriops decandra* dengan variasi pelarut yang berbeda.

### 2.3 Ekstraksi

Untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari buah mangrove *Cerriops decandra* hal pertama yang perlu dilakukan adalah ekstraksi. Ekstraksi merupakan proses pelarutan senyawa-senyawa kimia yang terdapat dalam suatu sampel dengan menggunakan pelarut yang sesuai dengan komponen yang diinginkan (Mamahit, 2009). Menurut Novia *et al.* (2009), tahap-tahap dalam proses ekstraksi adalah sebagai berikut:

1. Pencampuran bahan ekstraksi dengan pelarut dan didiamkan selama 24 jam, dalam hal ini terjadi perpindahan massa secara difusi pada bidang antar muka bahan ekstraksi dengan pelarutnya, sehingga terjadi pelarutan ekstrak
2. Memisahkan larutan ekstrak dari pelarut
3. Mengisolasi ekstrak dari larutan ekstrak dan mendapatkan kembali pelarut. Ekstrak yang dihasilkan dapat langsung diolah lebih lanjut atau diolah setelah dipekatkan

Metode-metode dalam ekstraksi yaitu, perkolasi, maserasi, refluks dan soxhlet. Perkolasi merupakan ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada suhu ruang. Maserasi merupakan proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar (Rija'i *et al.*, 2015).

Keuntungan metode maserasi yaitu mampu mengurangi rusaknya senyawa yang terkandung dalam sampel akibat pemanasan dan tidak memerlukan alat khusus dibandingkan dengan metode soxhletasi. Metode ini sangat sederhana namun mampu memisahkan senyawa kimia yang diinginkan hanya dengan menggunakan pelarut tertentu (Chasani *et al.*, 2013). Menurut Hernani dan Marwati (2007), faktor-faktor yang mempengaruhi mutu ekstrak antara lain kualitas bahan baku, jenis pelarut dalam proses ekstraksi, metode ekstraksi yang digunakan, ukuran partikel bahan, suhu saat ekstraksi, pH ekstrak dan metode pemurniaannya.

## **2.4 Pelarut**

Dalam melakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan senyawa bioaktif dalam buah mangrove *Cerriops decandra* pelarut yang digunakan perlu diperhatikan oleh karena itu pemilihan bahan pelarut dalam proses ekstraksi harus memperhatikan polaritas bahan atau senyawa yang akan diisolasi. Polaritas yang menunjukkan tingkat kelarutan bahan dalam air di satu sisi dan pelarut organik disisi lain yang berlawanan, yang cenderung larut dalam air disebut memiliki sifat polar, dan sebaliknya yang cenderung larut dalam pelarut organik disebut non-polar. Bahan-bahan dan senyawa kimia pada dasarnya akan mudah larut dalam bahan pelarut yang sama polaritasnya. Tingkat polaritas suatu bahan pelarut dapat ditunjukkan dengan pengukuran konstanta dielektrikum (Sudarmadji *et al.*, 1989). Konstanta dielektrikum bahan-bahan pelarut dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.**Konstanta Dielektrikum Bahan-bahan Pelarut

Bahan pelarut	Konstanta dielektrik (D)	Tingkat kelarutan dalam air		
		Tak larut	Sedikit	Misibel *
N-heksan	1,89	Tidak larut		
Etil asetat	6,02		Sedikit	
Etanol	24,30			Misibel
Metanol	33,60			Misibel
Air	80,40			Misibel

Misibel artinya dapat bercampur dengan air dalam berbagai proporsi

Sumber: Sudarmadji *et al.*, (1989).

#### 2.4.1 N-Heksan

Salah satu pelarut yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan senyawa bioaktif dalam buah mangrove *Cerriops decandra* yaitu N-Heksan. Heksana merupakan sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia  $C_6H_{14}$ . Awalan *heks-* merujuk pada enam atom karbon yang terdapat pada heksana dan akhiran *-ana* berasal dari *alkana*, merujuk pada ikatan tunggal yang menghubungkan atom-atom karbon tersebut. Dalam keadaan standar senyawa ini merupakan cairan tak berwarna yang tidak larut dalam air (Munawaroh dan Handayani, 2010). Sifat fisika pelarut N-heksan dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Sifat Fisika dan Kimia N-heksan

Sifat	Nilai
Titik didih	69°C (342 K)
Koefisien dielektrik	18,8
Tegangan permukaan (20° C)	18,4 dyne/cm
Berat jenis	0,6548 g/ml
Viskositas	0,294 cP (25°C)
Titik cair	-95°C (178 K)

Sumber: Andaka, (2009).

### 2.4.2 Etil Asetat

Salah satu pelarut yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan senyawa bioaktif dalam buah mangrove *Cerriops decandra* yaitu etil asetat. Etil asetat merupakan senyawa yang dihasilkan dari pertukaran gugus hidroksil pada asam karboksilat dengan gugus hidrokarbon yang terdapat pada etanol. Etil asetat disintesis dengan menggunakan asam sulfat. Penggunaan katalisator asam sulfat dapat menghasilkan konversi yang cukup tinggi, yaitu mencapai 98% (Nuryoto, 2008). Ditambahkan oleh Azura dan Sutri (2015), etil asetat adalah cairan jernih tak berwarna yang memiliki bau khas yang digunakan sebagai pelarut. Apabila dibandingkan dengan etanol, etil asetat memiliki koefisien yang lebih tinggi dibandingkan dengan etanol termasuk penggunaannya sebagai gasoline. Sifat fisika dan kimia etil asetat dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.**Sifat Fisika dan Kimia Etil Asetat

Karakteristik	Syarat
Rumus molekul	$C_4H_8O_2$
Keadaan fisik	Cair
Berat molekul	88,11 g/mol
Warna	Tidak berwarna
Titik didih	77°C (170,6°F)
Titik leleh	-83°C (-117,4°F)
Kelarutan	Larut dalam air dingin, air panas, dietil eter, aseton, alkohol benzen

Sumber: Nasution dan Rahmah, (2014).

### 2.4.3 Etanol

Salah satu pelarut yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan senyawa bioaktif dalam buah mangrove *Cerriops decandra* yaitu etanol. Etanol atau disebut juga etil alkohol atau alkohol saja merupakan alkohol yang paling sederhana dan sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Etanol memiliki sifat tidak beracun, bahan ini banyak dipakai sebagai pelarut



dalam dunia farmasi dan industri makanan serta minuman. Etanol merupakan jenis pelarut polar (Maulida dan Zulkarnaen, 2010). Menurut Wiratmaja *et al.*, (2011).

Pelarut etanol mempunyai polaritas tinggi jika dibandingkan jenis pelarut organik lainnya. Etanol mempunyai titik didih yang rendah dan cenderung aman. Etanol juga tidak beracun dan berbahaya. Kelemahan dari pelarut etanol adalah etanol larut dalam air dan juga melarutkan komponen lain yaitu protein (Janan *et al.*, 2013). Sifat fisika dan kimia dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Sifat Fisika dan Kimia Etanol

Karakteristik	Syarat
Rumus molekul	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH
Massa molekul relative	46,07 g/mol
Titik leleh	-114,3°C
Titik didih	78,32°C
Densitas pada 20°C	0,7893 g/cm <sup>3</sup>
Kelarutan dalam air 20°C	Sangat larut
Viscositas pada 20°C	1,17cP
Kalor spesifik pada 20°C	0,579 kal/g °C

Sumber: Rizani, (2000).

#### 2.4.4 Metanol

Salah satu pelarut yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan senyawa bioaktif dalam buah mangrove *Cerriops decandra* yaitu methanol. Metanol merupakan cairan polar yang dapat bercampur dengan air, alkohol-alkohol lain, keton, ester, eter, dan sebagian besar pelarut organik. Metanol sedikit larut dalam lemak dan minyak. Secara fisika metanol mempunyai afinitas khusus terhadap karbondioksida dan hidrogen sulfida. Titik didih metanol berada pada 64,7°C (Utomo, 2011). Sifat fisika dan kimia metanol dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Sifat Fisika dan Kimia Metanol

Karakteristik	Syarat
Rumus molekul	CH <sub>3</sub> OH
Keadaan fisik	Cair
Bau	Seperti alkohol
Berat molekul	32,04 g/mol
Warna	Tidak berwarna
Titik didih	64,5°C (148,1°F)
Titik leleh	-97,8°C (-144°F)

Sumber: Yudiati *et al.* (2011).

## 2.5 Radikal Bebas

Radikal bebas (*free radical*) atau sering juga disebut senyawa oksigen reaktif (*reactive oxygen species* atau ROS) merupakan sebuah molekul yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Radikal bebas memiliki sifat tidak stabil, sangat reaktif dan dapat menarik molekul lain untuk mendapatkan pasangan elektronnya. Molekul yang kehilangan elektron dapat bersifat reaktif. Dalam upaya memenuhi keganjilan elektronnya, radikal bebas yang elektronnya tidak berpasangan secara cepat akan menarik elektron makromolekul biologis yang berada di sekitarnya seperti protein, asam nukleat, dan asam deoksiribonukleat (DNA). Apabila makromolekul yang teroksidasi dan terdegradasi tersebut merupakan bagian dari sel atau organel, maka dapat menyebabkan kerusakan pada sel tersebut (Astuti, 2008).

Reaktivitas radikal bebas merupakan upaya untuk mencari pasangan elektron, sebagai dampak kerja radikal bebas tersebut akan terbentuk radikal bebas baru yang berasal dari atom atau molekul yang elektronnya diambil untuk berpasangan dengan radikal sebelumnya. Serangan radikal bebas terhadap molekul sekelilingnya akan menyebabkan terjadinya reaksi berantai, yang kemudian menghasilkan senyawa radikal baru. Reaktivitas senyawa radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan sel atau jaringan, penyakit degeneratif hingga kanker (Winarsi, 2007).

## **2.6 Antioksidan**

Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas dapat terhambat (Suhando *et al.*, 2013). Senyawa antioksidan memiliki peran yang sangat penting dalam kesehatan. Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan dapat mengurangi resiko terhadap penyakit kronis, seperti kanker dan penyakit jantung koroner. Senyawa antioksidan memiliki kemampuan untuk menangkap radikal bebas (Amrun *et al.*, 2007).

### **2.6.1 Fungsi Antioksidan**

Antioksidan menurut Rohmatussolihah (2009), memiliki beberapa fungsi salah satunya yaitu Antioksidan merupakan suatu senyawa kimia yang mampu mencegah dan menghambat reaksi radikal bebas. Antioksidan memiliki fungsi untuk memutuskan reaksi berantai dari radikal bebas yang terdapat di dalam tubuh, sehingga menyelamatkan sel-sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas. Antioksidan juga berperan dalam menetralkan radikal bebas dengan cara memberikan satu elektronnya kepada radikal bebas, sehingga menjadi non radikal

### **2.6.2 Sumber Antioksidan**

Antioksidan sangat beragam jenisnya. Berdasarkan sumbernya antioksidan dikelompokkan menjadi dua, yaitu antioksidan sintetis atau buatan (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan ekstraksi bahan alami).

### **2.6.2.1 Antioksidan Sintetik atau Buatan**

Antioksidan dibedakan menjadi 2 yaitu antioksidan buatan dan alami. Salah satunya yaitu Antioksidan sintetik atau buatan adalah antioksidan yang diproduksi secara reaksi kimia. Jenis antioksidan sintetik adalah BHA (Butil Hidroksi Anisol), BHT (Butil Hidroksi Toluena) (Sarastani *et al.*, 2002). Menurut Istiani (2010), bahwa penggunaan antioksidan sintetik misalnya BHT dapat menimbulkan akibat buruk terhadap kesehatan konsumen, seperti gangguan pada fungsi hati, paru, mukosa usus dan keracunan.

### **2.6.2.2 Antioksidan Alami**

Antioksidan alami merupakan antioksidan yang berasal dari alam. Antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan adalah senyawa fenolik, yang dapat berupa golongan flavonoid, tokoferol dan asam organik polifungsional (Isnindar *et al.*, 2011). Antioksidan alami mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan spesies oksigen reaktif, mampu menghambat terjadinya penyakit degeneratif (Kuncahyo dan Sunardi, 2007).

## **2.7 Uji Aktivitas Antioksidan**

Salah satu prinsip dari metode uji aktivitas antioksidan adalah pengukuran penangkapan radikal bebas sintetik dalam pelarut organik polar, yaitu metanol pada suhu kamar oleh suatu senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Pengujian aktivitas antioksidan dari sampel dilakukan secara spektrofotometri menggunakan larutan pembanding berdasarkan kemampuannya dalam mekanisme pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas (Afriani *et al.*, 2014).

Salah satu pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). Metode pengujian ini merupakan metode konvensional dan telah lama digunakan untuk penetapan aktivitas antioksidan. Metode ini mudah digunakan, cepat, cukup teliti dan baik digunakan dalam pelarut organik (Sastrawan *et al.*, 2013). Metode DPPH menurut Rastuti dan Purwati (2012), memberikan informasi reaktivitas senyawa flavonoid dan fenol suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm. Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat dan terbukti akurat.

Dalam pengujian ada beberapa parameter yang harus diperhatikan yaitu parameter yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan dengan penangkapan radikal DPPH ini adalah nilai konsentrasi hambatan atau *Inhibitory Concentration* ( $IC_{50}$ ) atau *efficient concentration* ( $EC_{50}$ ). Semakin kecil nilai  $IC_{50}$ , maka semakin aktif sampel tersebut sebagai antioksidan (Budilaksono *et al.*, 2011). Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai  $IC_{50}$  kurang dari 50 ppm, antioksidan kuat untuk nilai  $IC_{50}$  50-100 ppm, antioksidan sedang jika  $IC_{50}$  bernilai 100-150 ppm, dan antioksidan lemah jika  $IC_{50}$  bernilai 151-200 ppm (Martiningsih, 2014).

### 2.7.1 DPPH

DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) merupakan suatu molekul radikal bebas dengan warna ungu dapat berubah menjadi senyawa stabil dengan warna kuning oleh reaksi antioksidan, dimana antioksidan memberikan satu elektronnya pada DPPH sehingga terjadi reaksi pada radikal bebas DPPH (Yuhernita dan Juniarti, 2011). DPPH telah banyak digunakan untuk menguji kemampuan senyawa yang bertindak sebagai penangkal radikal bebas atau pendonor hidrogen. Elektron yang terdapat pada radikal bebas DPPH memberikan absorpsi maksimum pada

panjang gelombang 517 nm dan berwarna ungu. Perubahan warna dari ungu menjadi kuning terjadi ketika elektron radikal DPPH berpasangan dengan sebuah hidrogen dari penangkap radikal bebas suatu antioksidan untuk membentuk DPPH-H (Septiana dan Asnani, 2012).

Senyawa (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) yang bereaksi dengan senyawa antioksidan melalui pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan untuk mendapatkan pasangan elektron akan menghasilkan bentuk tereduksi difenil pikril hidrazin dan senyawa bukan radikal yaitu DPP Hidrazin yang stabil. Adanya penurunan serapan tersebut maka aktivitas antioksidan penangkap radikal dapat ditentukan (Afriani *et al.*, 2014).

### 2.7.2 Vitamin C

Vitamin C atau asam askorbat mempunyai berat molekul 178 dengan rumus molekul  $C_6H_8O_6$ . Vitamin C dalam bentuk kristal tidak berwarna, titik cair 190 – 192°C. Bersifat larut dalam air sedikit larut dalam aseton atau alkohol yang mempunyai berat molekul rendah. Vitamin C sukar larut dalam kloroform, ether dan benzene (Sudarmadji *et al.*, 1989). Vitamin C merupakan salah satu zat gizi yang berperan sebagai zat antioksidan yang dapat menetralkan radikal bebas hasil dari oksidasi lemak, sehingga dapat mencegah beberapa penyakit seperti kanker, jantung dan penuaan dini (Wariyah, 2010).

Vitamin C berfungsi sebagai antioksidan sehingga berperan dalam pemeliharaan pertahanan antioksidan, dan dengan demikian meredam efek radikal bebas (Silalahi, 2006). Vitamin C dalam tubuh berfungsi sebagai antioksidan, meskipun yang tepat belum diketahui tetapi vitamin C berperan serta di dalam proses metabolisme yang berlangsung dalam jaringan tubuh. Vitamin C merupakan vitamin yang sangat penting dalam tubuh. Kebutuhan vitamin C berkisar 20-30 mg perhari, bagi anak-anak maupun orang dewasa. Sedangkan

untuk ibu hamil dan ibu menyusui perlu tambahan lagi sejumlah 20 mg (Triwahyuni dan Yusrin, 2012).

## **2.8 Senyawa Fitokimia**

Senyawa fitokimia merupakan senyawa golongan metabolit sekunder dalam tumbuhan yang memiliki fungsi tertentu bagi manusia (Sani *et al.*, 2014). Senyawa metabolit sekunder merupakan sumber bahan kimia alami yang dapat di temukan di alam. Senyawa-senyawa yang tergolong dalam metabolit sekunder antara lain; alkaloid, flavonoid, terpenoid dan steroid (Darminto *et al.*, 2009).

Skrining fitokimia merupakan metode yang digunakan untuk mengetahui keberadaan senyawa-senyawa metabolit sekunder dari tumbuh-tumbuhan. Metode ini digunakan karena pengerjaannya sederhana, cepat, sedikit menggunakan Sperialatan dan sangat selektif. Skrining fitokimia dapat memberikan informasi tentang keberadaan senyawa metabolit sekunder, merupakan sumber senyawa bioaktif yang terdistribusi dalam jaringan sel tanaman (Nohong, 2009).

### **2.8.1 Alkaloid**

Alkaloid merupakan golongan sekunder terbesar pada tumbuhan. Pada umumnya alkaloid mencakup senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan, sebagian dari sistem siklik. Senyawa ini dapat digunakan sebagai penangkal radikal bebas .Alkaloid sering kali beracun bagi manusia dan banyak mempunyai kegiatan fisiologis yang menonjol, jadi digunakan secara luas dalam bidang pengobatan (Harborne, 1987).

Alkaloid merupakan salah satu metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan, yang biasa dijumpai pada bagian daun, ranting, biji dan kulit batang. Alkaloid mempunyai efek dalam bidang kesehatan berupa pemicu sistem saraf, menaikkan tekanan darah, mengurangi rasa sakit, obat penyakit jantung dan lain-lain (Aksara *et al.*, 2013).

### **2.8.2 Flavonoid**

Flavonoid menurut Mangunwardoyo.*et al.*, (2009), merupakan salah satu golongan fenol yang terdapat dalam tumbuhan. Menurut strukturnya, flavonoid merupakan turunan dari senyawa induk flavon. Flavonoid mengandung atom karbon dalam inti dasarnya yang tersusun dalam konfigurasi  $C_6-C_3-C_6$ , yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga-karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Seluruh varian flavonoid saling berkaitan karena alur biosintesis yang berasal dari jalur sikimat dan alur asetat malonat. Senyawa ini umumnya terikat sebagai glikosida, baik O-glikosida maupun C-glikosida

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder bersifat semipolar pada tanaman. Kelompok besar dalam flavonoid adalah flavonol, flavone, isoflavon, katekin, proantosianidin dan antosianin. Senyawa-senyawa tersebut mempunyai aktivitas antioksidan (Martini, 2006). Berbagai jenis senyawa, kandungan dan aktivitas antioksidatif flavonoid sebagai salah satu kelompok antioksidan alami yang terdapat pada sereal, sayur-sayuran dan buah. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonorkan atom hidrogennya atau melalui kemampuan mengkelat logam, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai sampai glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Redha, 2010).



### 2.8.3 Steroid dan Triterpenoid

Steroid merupakan golongan dari senyawa triterpeinoid. Senyawa steroid dapat diklasifikasikan menjadi steroid dengan atom karbon tidak lebih dari 21 (steroid sederhana) dan steroid dengan atom karbon lebih dari 21 seperti sterol, sapogenin, alkaloid steroid, glikosida jantung dan vitamin D. Steroid alami berasal dari berbagai transformasi kimia dua triterpen yaitu lanosterol dan sikloartenol. Pada umumnya steroid tumbuhan berasal dari sikloartenol. Senyawa steroid dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan obat (Nuraini, 2007).

Triterpenoid merupakan suatu senyawa yang memiliki kerangka dasar yang terdiri dari enam unit satuan isoprena dan dalam biosintesis diturunkan dari hidrokarbon  $C_{30}$  asiklik, yaitu skualena. Triterpenoid merupakan golongan terbesar dari terpenoid dan tersebar luas dalam tumbuhan dan hewan (Ridhia *et al.*, 2013). Sebagian besar senyawa triterpenoid mempunyai kegiatan fisiologis yang menonjol sehingga dalam kehidupan sehari-hari banyak digunakan sebagai obat seperti untuk pengobatan penyakit diabetes, gangguan menstruasi, patukan ular, gangguan kulit, kerusakan hati dan malaria (Widiyati, 2006).

### 2.8.4 Saponin

Saponin menurut Rosida (2002), merupakan glikosida campuran karbohidrat sederhana aglikon yang terdapat pada bermacam-macam tanaman. Berdasarkan hasil hidrolisisnya saponin dibedakan menjadi dua, yaitu karbohidrat dan sapogenin. Sedangkan sapogenin terdiri dari dua golongan, yaitu saponin steroid dan saponin triterpenoid. Saponin mempunyai efek biologi terhadap hewan dan manusia

Saponin adalah senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis sel darah. Saponin dapat menimbulkan keracunan pada ternak

(misalnya saponin alfalfa, *Medicago sativa*) atau karena rasanya yang manis (misalnya glisirizin dari akan manis, *Glycyrrhiza glabra*). Banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai lima dan komponen yang umum ialah asam glukuronat (Harborne, 1987).

### 2.8.5 Tanin

Tanin merupakan senyawa fenol yang terkandung dalam tumbuhan, mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit (Robinson, 1995). Tanin memiliki berat molekul mulai dari 500 sampai lebih dari 20.000 (Marnoto, 2012). Senyawa tannin menurut Sahid.*et al*, (2013), adalah senyawa polifenol kelompok flavonoid yang memiliki fungsi sebagai antikanker, antioksidan kuat dan anti peradangan

Senyawa tannin menurut Ismarani (2012), adalah senyawa astringent yang memiliki rasa pahit dari gugus polifenolnya yang dapat mengikat dan mengendapkan atau menyusutkan protein. Tanin memiliki sifat umum, yaitu memiliki gugus phenol dan bersifat koloid, sehingga jika terlarut dalam air bersifat koloid asam lemah. Umumnya tanin dapat larut dalam air. Kelarutannya besar dan akan meningkat apabila dilarutkan dalam air panas. Tanin dapat larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, aseton dan pelarut organik lainnya. Tanin akan terurai menjadi pyrogallol, pyrocatechol dan phloroglucinol bila dipanaskan sampai suhu 210°C-215°F (98,89°C-101,67°C). Tanin mempunyai berat molekul tinggi dan cenderung mudah dioksidasi menjadi polimer, sebagian besar tanin bentuknya amorf dan tidak mempunyai titik leleh. Tanin berwarna putih kekuning-kuningan sampai coklat terang, tergantung dari sumber tanin. Warna tanin akan menjadi gelap apabila terkena cahaya langsung atau dibiarkan di udara terbuka.

### 2.8.6 Polifenol

Beberapa senyawa dari polifenol mempunyai aktivitas antihipertensi. Beberapa penelitian juga memperlihatkan bahwa flavonoid dan tanin yang umumnya terdapat dalam buah-buahan, sayur-sayuran, serta minuman mampu menghambat nicotinamida adenine dinucleotida phosphat (NADPH) oksidase melalui penghambatan ACE, peningkatan eNOS-spesifik.

### 2.9 LC-MS (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry)

*Mass Spectrometer* (MS) menurut Maryam (2007), merupakan alat yang dapat memberikan informasi mengenai bobot molekul dan struktur senyawa organik. Selain itu, alat ini juga dapat mengidentifikasi dan menentukan komponen-komponen suatu senyawa. Deteksi dengan LC-MS dapat dilakukan tanpa proses derivatisasi. Pada LC-MS, sampel yang telah dipisahkan dalam kolom diuapkan pada suhu tinggi, kemudian diionisasi. Ion yang terbentuk difragmentasi sesuai dengan rasio massa atau muatan ( $m$  atau  $z$ ), yang selanjutnya dideteksi secara elektrik.

Menurut Ginting (2012), *Liquid Chromatograph-tandem Mass Spectrometry* (LC-MS), merupakan satu-satunya teknik kromatografi cair dengan detektor spektrometer massa. Kelebihan dari teknologi LC-MS meliputi:

- a. Spesifitas. Hasil analisis yang khas dan spesifik diperoleh dari penggunaan spektrometer massa sebagai detektor.
- b. Aplikasi yang luas dengan sistem yang praktis. Berbeda dengan GC-MS sebagai spektrometer massa “klasik”, penerapan LC-MS tidak terbatas untuk molekul volatil (biasanya dengan berat molekul dibawah 500 Da). Mampu mengukur analit yang sangat polar, selain itu persiapan sampel cukup sederhana tanpa adanya teknik derivatisasi.
- c. Fleksibilitas. Pengujian yang berbeda dapat dikembangkan dengan tingkat fleksibilitas yang tinggi dan waktu yang singkat.

- d. Kaya informasi. Sejumlah data kuantitatif maupun kualitatif dapat diperoleh. Hal ini disebabkan seleksi ion yang sangat cepat dengan banyak paramete

### 3 METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari bahan utama, bahan ekstraksi, bahan uji aktivitas antioksidan, bahan uji fitokimia dan bahan pembantu. Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah mangrove *Cerriopsdecandra* yang diperoleh dari perairan prigi, Kabupaten Trenggalek, JawaTimur. Bahan-bahan untuk ekstraksi yaitu etanol, Etil Asetat, N-Heksan kertas saring, alumunium foil dan plastik wrap. Bahan-bahan uji aktivitas antioksidan adalah ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra*, pereaksi DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*), metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), alumunium foil dan vitamin C. Bahan-bahan untuk uji fitokimia adalah ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra*, kloroform, amonia, asam sulfat, reagen mayer, wagner, dragendorff, etanol, Mg, HCl, asam anhidrat, akuades, dan  $\text{FeCl}_3$ . Bahan-bahan pembantu yang digunakan adalah tisu, kertas label, plastik hitam

##### 3.1.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari alat-alat yang digunakan dalam proses ekstraksi, uji aktivitas antioksidan, uji fitokimia dan identifikasi senyawa bioaktif. Alat-alat yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah timbangan digital, *beaker glass* 1000 mL, *erlenmeyer* 1000 mL, gelas ukur 100 mL, corong, *spatula*, *hot plate*, *magnetic stirer* ukuran 2 cm dan 4 cm, sendok bahan dan *rotary vacuum evaporator*. Alat untuk uji aktivitas antioksidan adalah tibangan analitik, labu ukur 5 mL dan 100 m, gelas ukur 10 mL dan 100 mL, corong, botol vial, *beaker glass* 100 mL, *spatula*, pipet volume 5 mL, bola

hisap, mikro pipet ukuran 10 – 100  $\mu$ L dan 10 – 1000  $\mu$ L, *blue tipe*, *yellow tipe* dan spektrofotometri UV-Vis. Alat-alat untuk uji fitokimia adalah timbangan analitik, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, pipet volume 5 mL, bola hisap, *spatula*, dan *beaker glass* 5 mL. Alat yang digunakan untuk uidentifikasi senyawa bioaktif ekstrak buah mangrove *Cerriopsdecandra* adalah instrumen LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*).

### **3.2 Metode Penelitian**

Metode penelitian pendahuluan yang digunakan adalah maserasi dengan perlakuan dari pola non polar ke polar dan pola dari polar ke non polar. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen. Eksperimen adalah suatu cara untuk mencari hubungan sebab akibat (hubungan kausal) antara dua faktor yang sengaja ditimbulkan oleh penelitian dengan mengeliminasi atau mengurangi atau menyisihkan faktor-faktor lain yang mengganggu. Eksperimen selalu dilakukan dengan maksud untuk melihat akibat suatu perlakuan (Arikunto, 2013). Penelitian eksperimen sangat sesuai untuk pengujian hipotesa tertentu dan dimaksud untuk mengetahui hubungan sebab akibat variabel penelitian. Penelitian eksperimen dilakukan di laboratorium, karena alat-alat yang khusus dan lengkap dapat tersedia di laboratorium dan pengaruh luar dapat dicegah selama eksperimen berlangsung (Singarimbun dan Effendi, 1989).

#### **3.2.1 Variabel Penelitian**

Variabel adalah segala kemungkinan sesuatu menjadi objek pengamatan penelitian. Variabel dalam penelitian terdiri dari variabel bebas dan variabel terikat. Dalam sebuah eksperimen, variabel bebas dimanipulasi dan efeknya terhadap variabel lainnya (variabel tak bebas) diukur. Kegunaan dari perlakuan eksperimen adalah melakukan sesuatu terhadap objek dan mengobservasi

reaksinya dalam kondisi dimana kinerja dapat diukur dengan menggunakan standar atau ukuran yang sudah dikenal (Wibisono, 2003). Variabel bebas pada penelitian ini adalah jenis pelarut yang berbeda dari ekstrak pelarut N-heksan, ekstrak pelarut etil dari residu N-heksan, ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat. Namun perlakuan yang digunakan adalah variasi pelarut. Variabel terikat pada penelitian ini adalah pengujian total fenol, aktivitas antioksidan dan kemudian diuji LC-MS pada perlakuan terbaik.

### **3.2.2 Rancangan Penelitian**

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Percobaan Lengkap (RAL) sederhana. Rancangan Acak Lengkap digunakan untuk suatu percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam (Sastrosupadi, 2000). Ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* dimaserasi secara bertingkat dengan dua pola. Pola pertama yang dimulai dari pelarut N-heksan, kemudian residu dari N-heksan dimaserasi dengan pelarut etil asetat dan selanjutnya residu dari etil asetat dimaserasi dengan pelarut etanol. Sedangkan pada pola kedua dimulai dari pelarut etanol, kemudian residu dari pelarut etanol dimaserasi dengan pelarut etil asetat dan residu dari etil asetat dimaserasi dengan pelarut N-heksan. Proses maserasi ini menghasilkan 6 perlakuan dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Rancangan penelitian uji aktivitas antioksidan ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* dengan variasi pelarut yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 6.

**Tabel 6.**Rancangan Penelitian Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
A					
B					
C					
D					
E					
F					

Keterangan:

- A : Ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* pelarut N-heksan  
 B : Ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* pelarut etil asetat dari residu N-heksan  
 C : Ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* pelarut etanol dari residu etil asetat  
 D : Ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* pelarut etanol  
 E : Ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* pelarut etil asetat dari residu etanol  
 F : Ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* pelarut N-heksan dari residu etil asetat

### 3.2.3 Parameter Uji

Parameter uji yang dilakukan adalah parameter uji kuantitatif, yaitu berdasarkan data yang diperoleh dari hasil perhitungan nilai  $IC_{50}$ .  $IC_{50}$  (*Inhibition concentration* 50%) merupakan nilai yang menunjukkan konsentrasi ekstrak (ppm) yang mampu menghambat radikal bebas DPPH sebesar 50%, yang diperoleh melalui persamaan regresi linear. Uji aktivitas antioksidan ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* dilakukan menggunakan metode DPPH dengan konsentrasi larutan 0 ppm (kontrol negatif), 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm dan 200 ppm. Uji aktivitas antioksidan dilakukan secara kuantitatif melalui pengukuran penangkapan radikal bebas DPPH oleh ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis.



### 3.3 Prosedur Penelitian Pendahuluan

#### 3.3.1 Ekstraksi buah mangrove *Cerriops decandra* (Modifikasi Septiana dan Asnani, 2012 dengan Naufalin *et al.*, 2005)

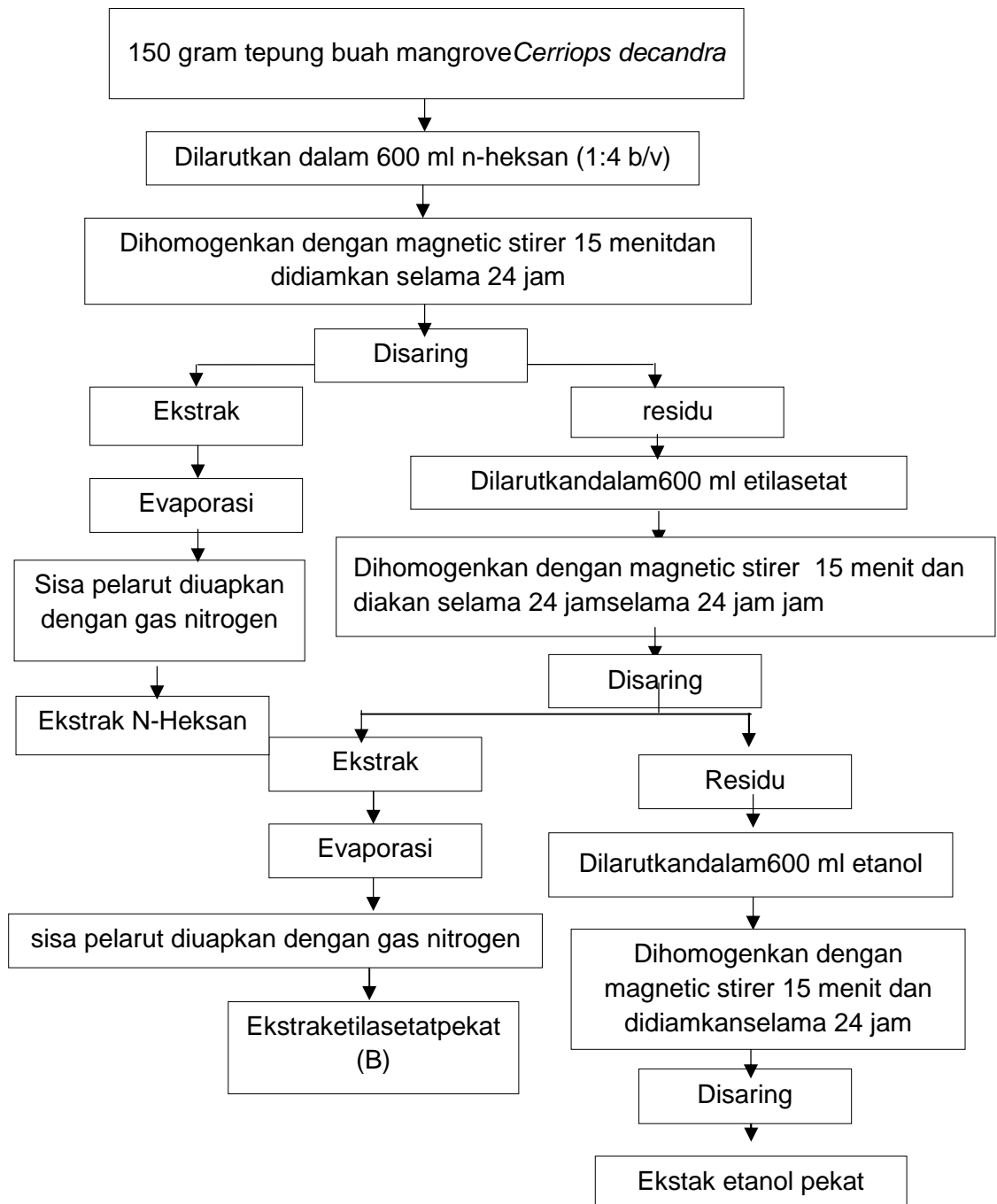
Senyawa bioaktif yang terkandung pada tumbuhan dapat dihasilkan melalui proses ekstraksi. Ekstraksi merupakan proses penarikan senyawa aktif yang terkandung pada suatu bahan dengan menggunakan pelarut. Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode ekstraksi maserasi secara bertingkat dengan menggunakan variasi pelarut berbeda yaitu N-heksan, etil asetat dan etanol dimana pelarut tersebut memiliki tingkat kepolaran yang berbeda. Proses maserasi bertingkat pada penelitian ini dilakukan dengan dua pola.

Sebelum dilakukan proses maserasi bertingkat, sampel buah mangrove *Cerriops decandra* yang dibersihkan terlebih dahulu untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel. Sampel yang sudah bersih kemudian dipotong kecil – kecil dan dikeringkan dibawah sinar matahari selama  $\pm 3$  hari untuk mengurangi kandungan air dalam bahan dan dihaluskan dengan mesin penggiling tujuannya untuk memperkecil ukuran partikel sampel. Ukuran partikel yang kecil diharapkan dapat memperluas kontak sampel dengan pelarutnya sehingga semakin banyak komponen bioaktif yang dapat terekstrak. Selain itu, penghalusan akan memecahkan sel-sel yang terdapat dalam jaringan sehingga komponen akan diekstrak dapat cepat keluar dari bahan.

Proses maserasi bertingkat untuk pola yang pertama yaitu ditimbang sebanyak 150 g buah mangrove *Cerriops decandra* yang sudah dihaluskan kemudian dimaserasi dalam 600 mL pelarut N-heksan dengan perbandingan 1:4 (b/v) dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* selama 24 jam. Setelah 24 jam residu dan filtrat dipisahkan melalui proses penyaringan dengan menggunakan kertas saring. Residu dari pelarut N-heksan kemudian dimaserasi dengan pelarut

etil asetat sebanyak 600 mL dan dihomogenkan dengan *magnetic stirer* selama 24 jam, dilakukan proses penyaringan dengan menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residu. Residu dari pelarut etil asetat dimaserasi dengan pelarut etanol sebanyak 600 mL kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirer* selama 24 jam. Setelah 24 jam dilakukan proses penyaringan dengan menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residu. Filtrat yang dihasilkan dari masing-masing pelarut kemudian dipisahkan dari pelarutnya dengan cara diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dan ditiup dengan menggunakan gas nitrogen (N<sub>2</sub>) sehingga didapatkan ekstrak pekat buah mangrove *Cerriops decandra*.

Proses maserasi bertingkat untuk pola yang kedua, yaitu sampel buah mangrove *Cerriops decandra* sebanyak 150 g dimaserasi dengan pelarut etanol perbandingan 1:4 (b/v) kemudian dihomogenkan menggunakan *magnetic stirer* selama 24 jam. Setelah 24 jam dilakukan proses penyaringan untuk memisahkan filtrat dan residu dengan menggunakan kertas saring. Residu dari pelarut etanol dimaserasi dengan pelarut etil asetat sebanyak 600 mL kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirer* selama 24 jam. Setelah 24 jam filtrat dan residu dipisahkan dengan menggunakan kertas saring. Residu dari pelarut etil asetat dimaserasi dengan pelarut N-heksan sebanyak 600 mL dan dihomogenkan dengan *magnetic stirer* selama 24 jam. Kemudian setelah 24 jam dilakukan proses penyaringan dengan menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residu. Filtrat yang dihasilkan dari masing-masing pelarut kemudian dipisahkan dari pelarutnya dengan cara diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dan ditiup dengan menggunakan gas nitrogen (N<sub>2</sub>) sehingga didapatkan ekstrak pekat buah mangrove *Cerriops decandra*. Skema proses maserasi bertingkat dapat dilihat pada Gambar 2.

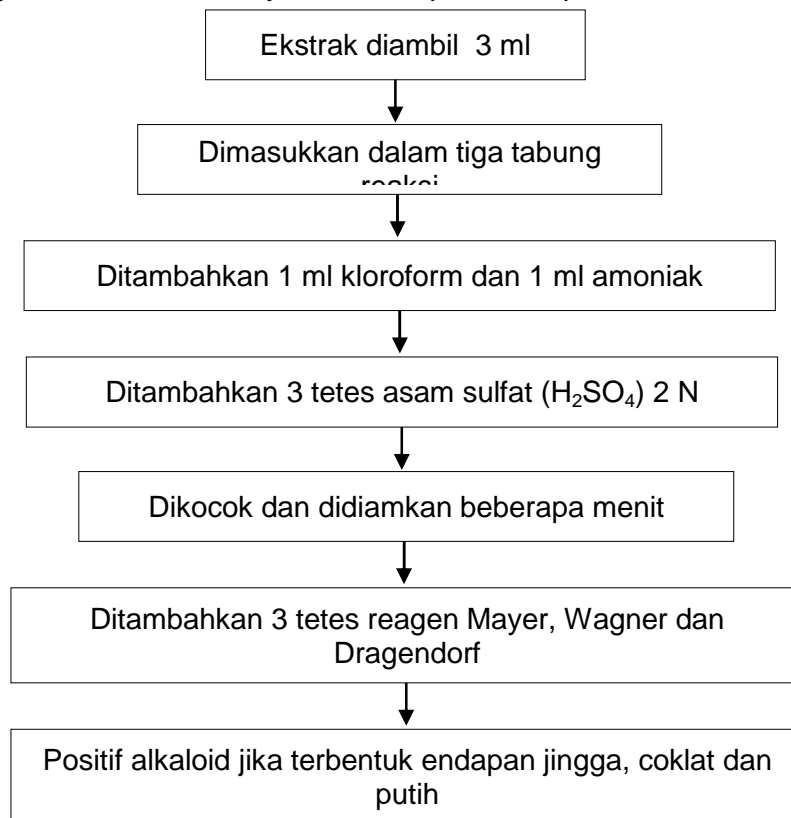


**Gambar 2.** Proses Ekstraksi Buah Mangrove *Cerriops decandra*

### 3.3.2 Uji Fitokimia

#### 3.3.2.1 Alkaloid (Modifikasi Harborne, 1987 dan Nafisah *et al.*, 2014)

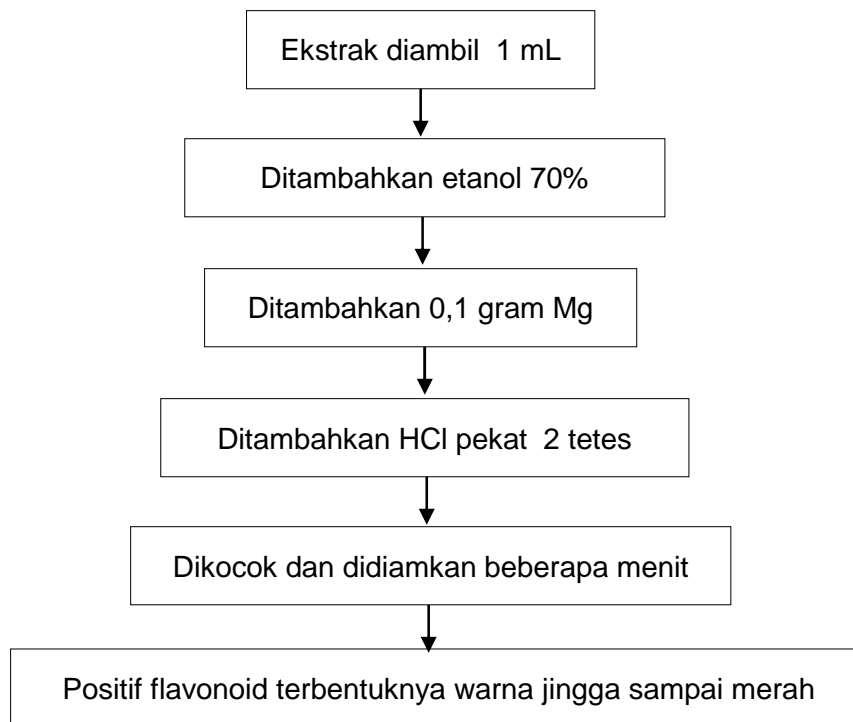
Ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* diambil sebanyak 3 mL, 1 mL dimasukkan dalam 3 tabung reaksi. Masing-masing tabung reaksi ditambahkan 1 mL kloroform, 5 tetes amoniak dan dikocok. Selanjutnya setiap tabung reaksi ditambahkan 5 tetes asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) dikocok kembali dan didiamkan beberapa menit. Kemudian ditambahkan 3 tetes pereaksi mayer, wagner dan dragendorff. Terbentuknya endapan putih, coklat dan jingga menunjukkan adanya alkaloid. Skema uji alkaloid dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3.**Skema Uji Alkaloid

### 3.3.2.2 Flavonoid (Modifikasi Nafisah *et al.*, 2014 dan Sangi *et al.*, 2008)

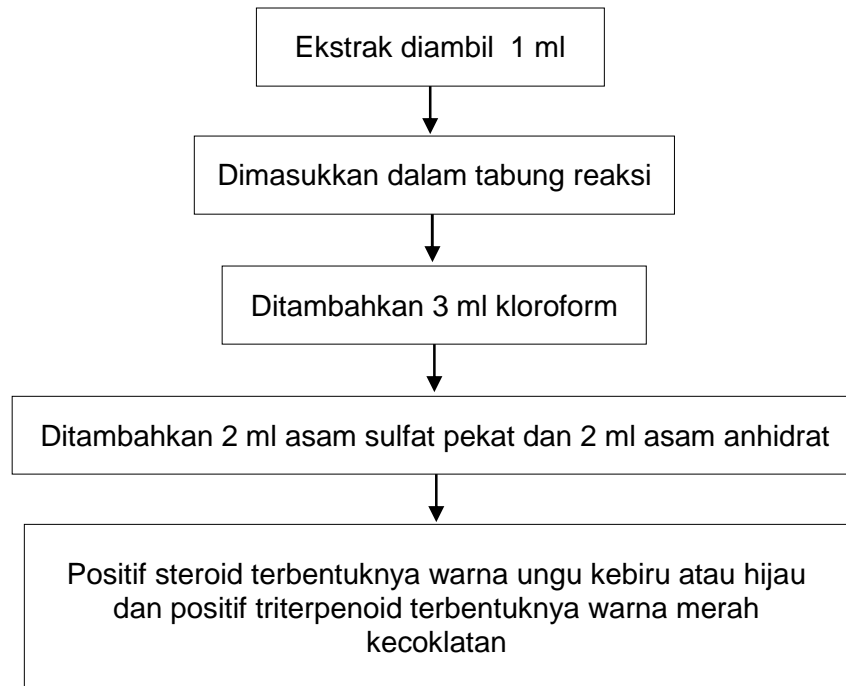
Ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* 1 mL dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 tetes etanol dan dikocok. Kemudian ditambahkan 0,2 g serbuk Mg dan ditetesi HCl sebanyak 5 tetes. Selanjutnya dikocok dan terbentuknya warna merah sampai jingga, menunjukkan adanya flavonoid. Skema uji flavonoid dapat dilihat pada Gambar



**Gambar 4.**Skema Kerja Uji Flafonoid

### 3.3.2.3 Steroid atau Triterpenoid (Modifikasi Nafisah *et al.*, 2014 dan Sangi *et al.*, 2008)

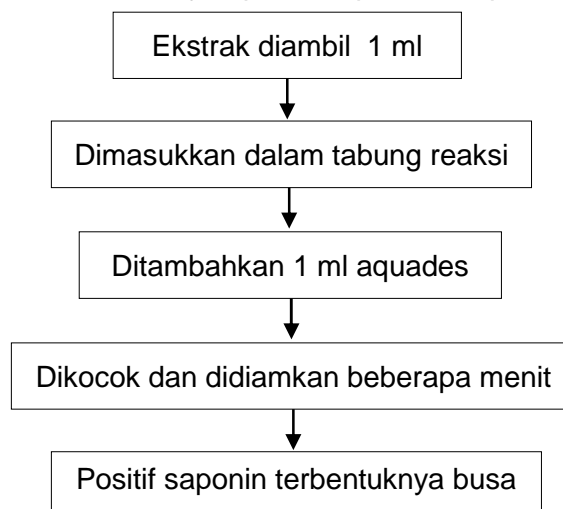
Ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* sebanyak 1 mL ditambahkan 3 tetes asam sulfat pekat dan 3 tetes asam anhidrat. Perubahan warna dari ungu ke biru atau hijau menunjukkan adanya steroid atau terbentuknya warna merah kecoklatan pada antar permukaan menunjukkan adanya triterpenoid. Skema steroid atau triterpenoid dapat dilihat pada Gambar 5.



**Gambar 5.**Skema Kerja Uji Steroid

#### 3.3.2.4 Saponin (Harborne, 1987)

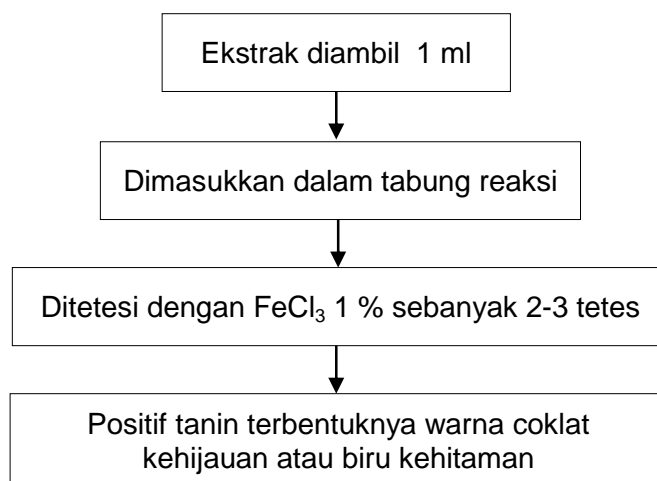
Ekstrak buah mangrove *Cerriops decandradi* diambil 1 mL dimasukkan dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan 1 mL aquades kemudian dikocok. Apabila terbentuk busa yang stabil tidak kurang dari 10 menit, memberikan uji positif adanya saponin. Skema uji saponin dapat dilihat pada Gambar 6.



**Gambar 6.**Skema Kerja Uji Saponin

### 3.3.2.5 Tanin (Harborne, 1987)

Ekstrak buah mangrove *Cerriops decandrad* diambil 1 mL dan ditetesi  $\text{FeCl}_3$  1% sebanyak 2-3 tetes. Kemudian dikocok, terbentuknya warna coklat kehijauan atau biru kehitaman menunjukkan adanya tanin. Skema uji tanin dapat dilihat pada Gambar 7.



**Gambar 7.**Skema Kerja Uji Tanin

### 3.3.3 Identifikasi Senyawa Bioaktif Menggunakan LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) (Modifikasi Lisdiawati *et al.*, 2007)

Identifikasi senyawa bioaktif ekstrak buah mangrove *Cerriops decandrad* dilakukan dengan menggunakan metode LC-MS. Tahap proses identifikasi ekstrak *Cerriops decandrad* dilakukan dengan cara melarutkan ekstrak sebanyak 0,8 mg dalam 0,8 mL metanol 95% dengan 0,3% asam asetat. Kemudian sebanyak 0,2  $\mu\text{L}$  campuran tersebut disuntikkan dalam botol dengan ketinggian 15 mm kemudian dialirkan pada instrumen LC-MS dengan laju alir 0,1 mL/menit serta dilakukan proses pompa selama 10-15 menit yang dialirkan ke dalam katup kolom *selector*, sehingga terjadi pemisahan menuju UV *detector*. Setelah proses pemisahan selesai, maka berat molekul akan terukur oleh spektrometer massa. Analisis ini dilakukan dengan metode ESI (*Electrospray ionization*) modus positif. Sistem spektrometer massa yang digunakan adalah

ESI-MS. Golongan senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* akan ditampilkan dalam bentuk puncak, dengan waktu retensi yang berbeda-beda. Puncak yang muncul terdiri dari spektra-spektra yang disertai dengan berat molekul-molekul dugaan dalam sampel. Skema identifikasi senyawa bioaktif menggunakan LC-MS dapat dilihat pada Lampiran 3.

### 3.3.4 Parameter yang Diamati

#### 3.3.4.1 Rendemen (Jannah et al., 2014)

Rendemen ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* dihitung berdasarkan perbandingan berat akhir (berat ekstrak yang dihasilkan) dengan berat awal (berat sampel) dikalikan 100%. Rendemen ekstrak dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \%$$

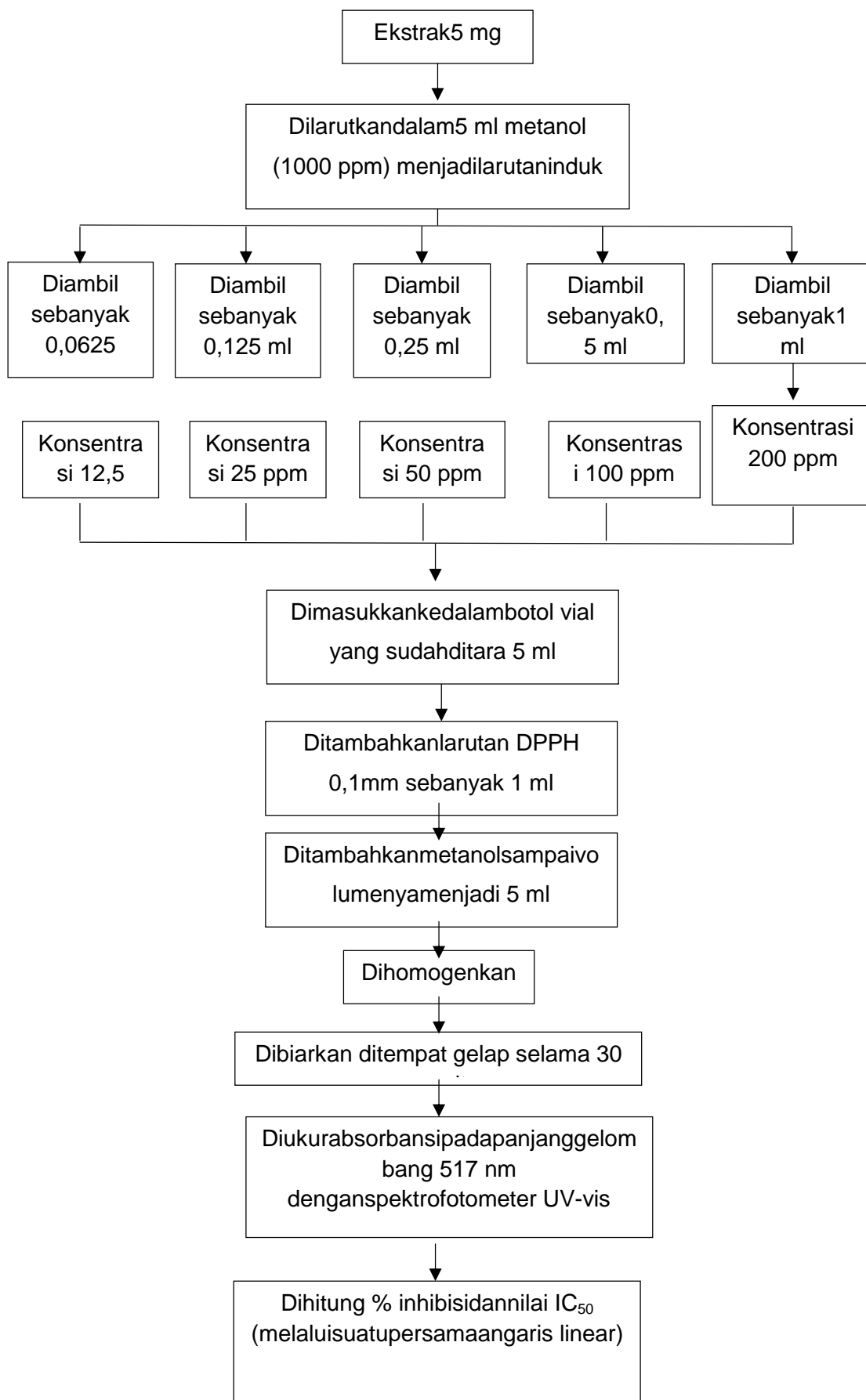
#### 3.3.4.2 Uji Aktivitas Antioksidan (Modifikasi Rohimat et al., 2014 dan Wikanta et al., 2010)

Proses uji aktivitas antioksidan ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* diawali dengan pembuatan larutan DPPH konsentrasi 0,1 mm dengan melarutkan DPPH murni 4 mg (0,004 gram) kedalam 100 mL metanol p.a. Proses selanjutnya adalah pembuatan larutan induk konsentrasi 1000 ppm dengan menimbang 5 mg ekstrak *Cerriops decandra* dan dilarutkan kedalam 5 mL metanol p.a. Larutan induk dipipet sebanyak 6,25 µL, 125 µL, 250 µL, 500 µL, dan 1000 µL. Kemudian dimasukkan ke dalam botol vial yang sudah dibungkus dengan aluminium foil untuk mendapatkan konsentrasi 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm dan 200 ppm. Kemudian dibuat kontrol negatif tanpa



penambahan sampel (0 ppm) dan dibuat juga kontrol positif, yaitu antioksidan vitamin C dengan konsentrasi dosis 2 ppm, 4 ppm, 8 ppm, 16 ppm dan 32 ppm.

Selanjutnya masing-masing konsentrasi ditambahkan 1 mL DPPH 0,1 mM dan dimasukkan kedalam botol vial yang sudah dibungkus dengan alumunium foil dan ditambahkan metanol sampai volumenya 5 mL. Selanjutnya campuran sampel antioksidan dan DPPH dihomegenkan dengan cara dikocok dan dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap. Setelah itu sampel diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada 517 nm. Hasil dari absorbansi dilakukan perhitungan %inhibisi dan perhitungan nilai  $IC_{50}$ . Skema uji aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Gambar 9.



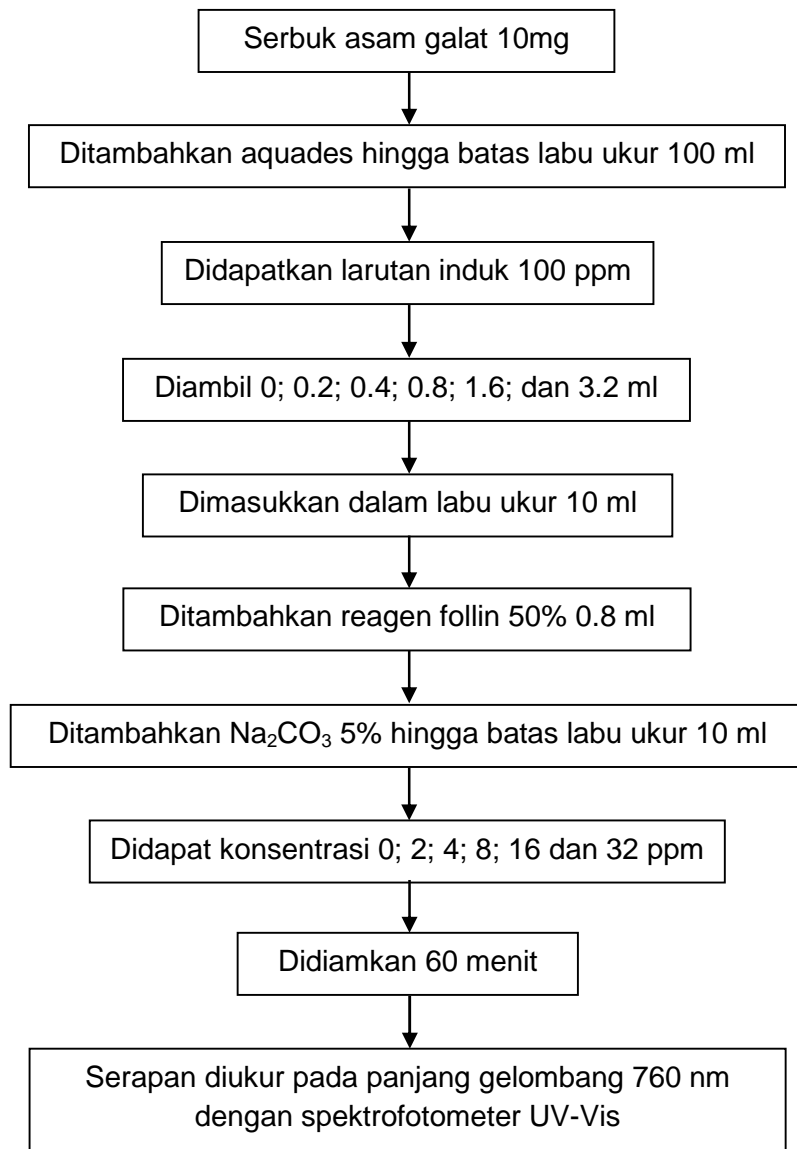
**Gambar 8.** Skema Kerja Uji Aktivitas Antioksidan

### 3.4 Analisis Data

Data total fenol dan nilai  $IC_{50}$  ekstrak buah mangrove *Cerriops decandradari* masing-masing variasi pelarut berbeda dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang dilakukan pada taraf kepercayaan 5% dan jika didapatkan hasil yang berbeda nyata maka dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) pada taraf 5%.

### 3.5 Total Fenol

Pengujian total fenol pertama adalah membuat larutan stok asam galat konsentrasi 100 ppm (mg/L) dengan cara melarutkan 0,01 g asam galat kedalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas. Diambil sebanyak 0; 0,2; 0,4; 0,8; 1,6 dan 3,2 mL dari larutan stok asam galat 100 ppm dan kedalamnya ditambahkan reagen folin sebanyak 0,8 mL, dimasukkan pada labu ukur 10 mL. Lalu ditambahkan  $Na_2CO_3$  5% hingga tanda batas, sehingga menghasilkan larutan standar dengan konsentrasi 0; 2; 4; 8; 16; dan 32 ppm. Larutan didiamkan selama 60 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 760 nm. Sehingga diperoleh kurva kalibrasi dengan persamaan regresi  $y = bx + a$ . Hasil yang diperoleh dibuat dalam bentuk kurva. Dari kurva tersebut dapat ditentukan panjang gelombang yang memberikan serapan maksimum. Skema pembuatan kurva asam galat dapat dilihat pada Gambar 9.



**Gambar 9.**Skema Pembuatan Kurva Asam Galat

Pada pengujian total fenol sampel ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* ditimbang untuk dilarutkan dengan pelarut metanol. Setelah itu disaring dan diambil 1 mg untuk direaksikan dengan reagen folin. Larutan dihomogenkan dengan cara dikocok. Lalu ditambahkan larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  sampai batas. Larutan didiamkan 60 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 760 dengan spektrofotometer UV-Vis. Konsentrasi senyawa fenolat dalam sampel dapat

ditentukan dengan mengalurkan absorbansi sampel pada kurva standar asam galat yang telah dibuat. Total senyawa fenol dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Total fenol} = \frac{C \times V \times FP}{W}$$

Keterangan:

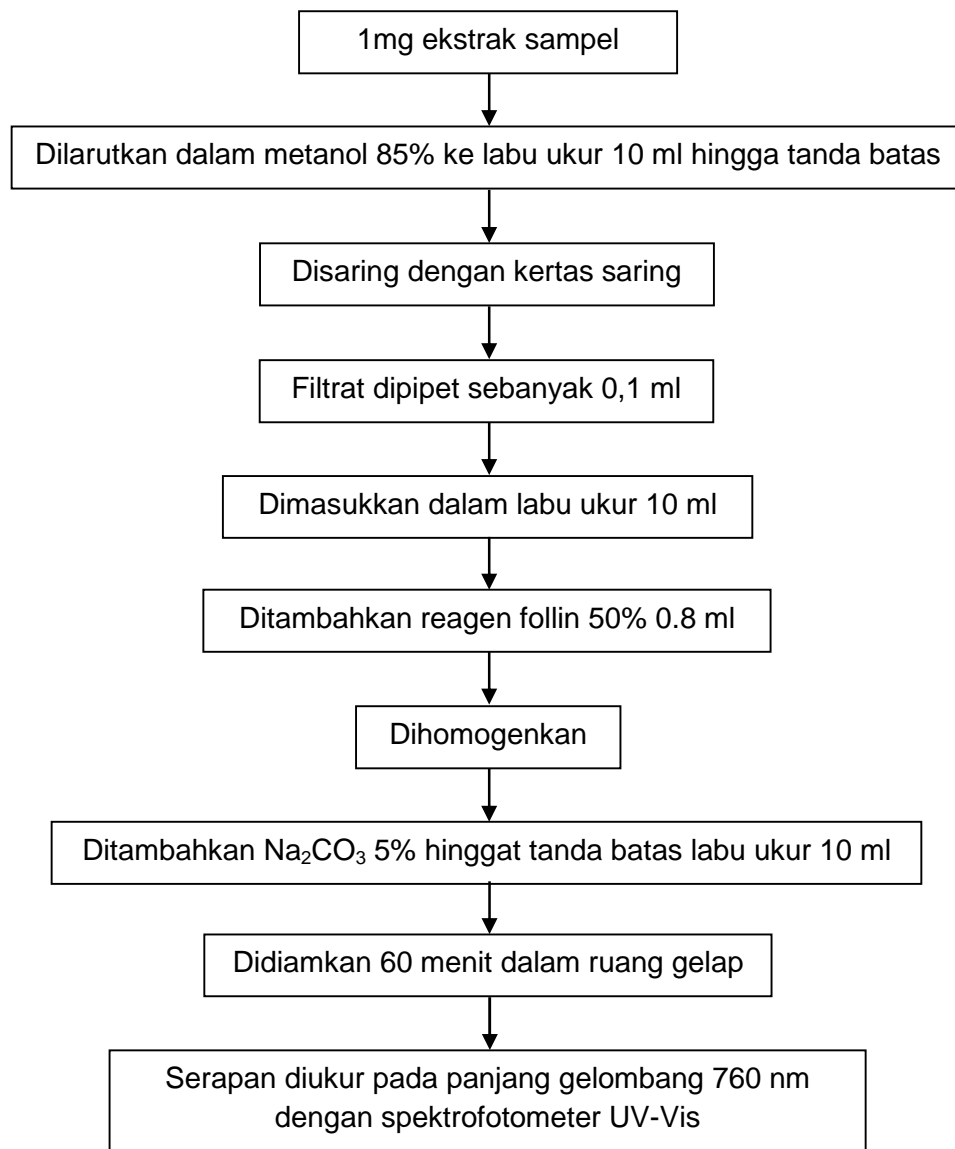
C = konsentrasi (mgGAE/L)

FP = factor pengencer

V = volume (ml)

W = bobot sampel (g)

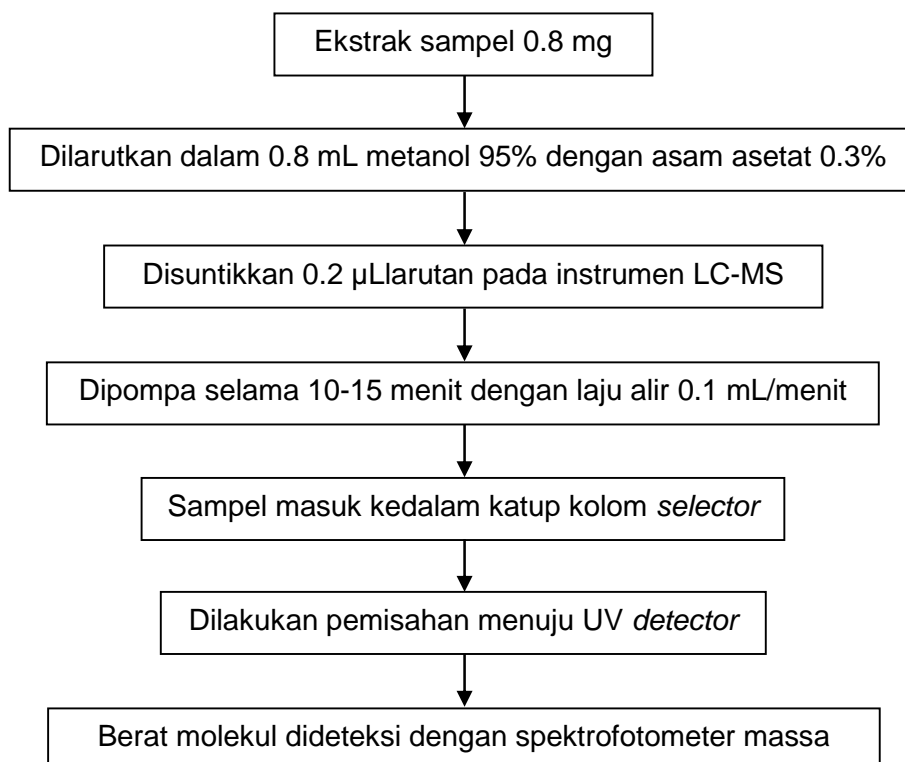
Skema pengujian total fenol ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* dapat dilihat pada Gambar 10.



**Gambar 10.**Skema Pengujian Total Fenol Ekstrak Buah Mangrove *Cerriops decandra*

### 3.3.1. Analisis *Liquid Chromatograph Mass Spectrofotometry* (modifikasi dari Lisdiawati *et al.*, 2007)

Analisis *liquid chromatograph mass spectrofotometry* (LC-MS) adalah metode yang memisahkan senyawa organik untuk diidentifikasi. Kelebihan dari metode ini adalah lebih sensitif dan selektif jika dibandingkan dengan menggunakan metode deteksi sinar UV biasa. Mula-mula ditimbang 0,8 mg ekstrak daun *Xylocarpus granatum*. Kemudian dilarutkan dalam 0,8 ml metanol 95% dan 0,8 ml asam asetat 0,3%. Sebanyak 0,2  $\mu$ l larutan diatas, disuntikkan dalam instrumen LC-MS dengan kecepatan 0,1 ml/menit. Larutan kemudian dipompa selama 10-15 menit dan masuk kedalam kolom selektor. Selanjutnya dilakukan pemisahan oleh UV detektor. Berat molekul yang dideteksi dihitung dengan spektrofotometer. Skema analisis senyawa bioaktif menggunakan LC-MS dapat dilihat pada Gambar 11.



**Gambar 11.** Skema Analisis Senyawa Bioaktif Menggunakan LC-MS

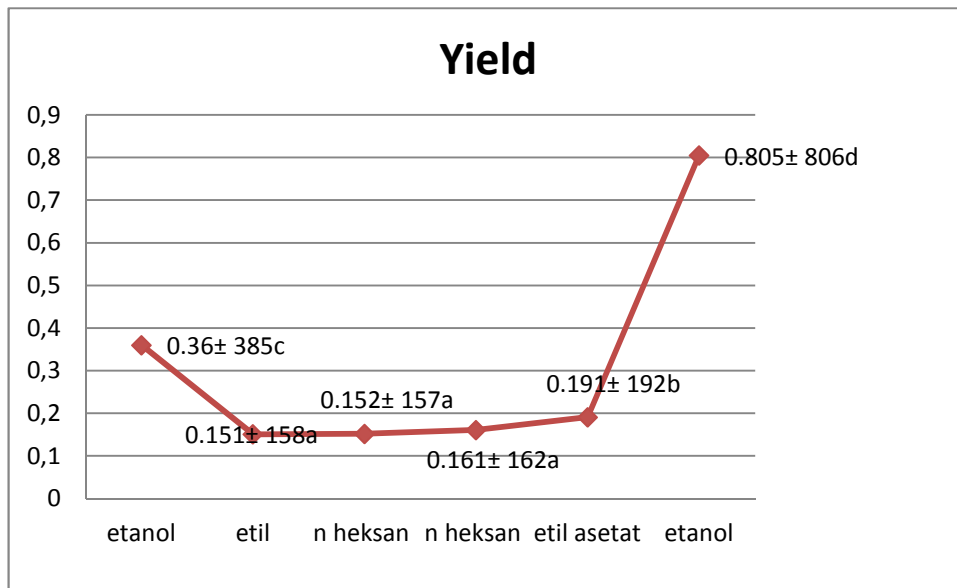
## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Yield Ekstrak Buah Mangrove *Cerriop decandra*

Berdasarkan nilai rata-rata yield didapatkan total rendemen yang tertinggi pada pelarut etanol. Namun bila dilihat berdasarkan perlakuan pendahuluan pola perlakuan, nilai yield ekstrak tepung buah mangrove *Cerriops decandra* yang tertinggi yaitu dari perlakuan Non Polar ke Polar. Chew *et al.*, (2011), menjelaskan bahwa yield hasil ekstraksi tergantung pada beberapa faktor, yaitu metode ekstraksi yang digunakan, ukuran partikel bahan ekstrak, kondisi dan waktu penyimpanan sampel mentah, lama waktu ekstraksi dan perbandingan jumlah pelarut terhadap sampel

Ekstraksi dengan metode maserasi masing-masing dengan pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya bertujuan untuk memisahkan senyawa terlarut dalam sampel. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Harborne (1998), bahwa ekstraksi dapat memisahkan campuran senyawa dengan berbagai sifat kimia yang berbeda. Diperkuat oleh penelitian Zulaikah *et al.* (2015), metode maserasi umumnya digunakan untuk mengisolasi senyawa bahan alam sehingga menyebabkan senyawa metabolit sekunder dan larut dalam pelarut organik.

Berdasarkan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) pada taraf kepercayaan 5% ( $P_{0,05}$ ) didapatkan hasil  $f_{hitung} > f_{tabel}$ , artinya perlakuan variasi pelarut yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda nyata dan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Hasil ANOVA (*Analysis of Variance*) dari yield ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* dapat dilihat Lampiran 5. dan nilai rendemen dapat dilihat pada Gambar 13.



**Gambar 12.** Nilai Yield Ekstrak Buah Mangrove *Cerriops decandra*

Darigambar diatas dapat dijelaskan bahwa hasil yield tertinggi yaitu ekstraksi buah mangrove *Cerriops decandra* dengan menggunakan pelarut etanol dan perlakuan non – polar ke polar dengan hasil 0,805%. Pada perlakuan polar ke non – polar dengan nilai 0,36% pelarut etanol. Sedangkan nilai terendah didapat pada pelarut etil asetat dengan perlakuan polar ke non – polar dengan nilai 0,150 dan 0,161%. Hasil tersebut dikarenakan perlakuan non polar ke polar dapat menarik senyawa yang akan di ekstrak keluar dari pelarut yang bersifat non polar, setah itu menarik semi polar kemudian non polar sehingga senyawa bioaktif dapat teratrik satu persatu. Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 5.

ekstrak tertinggi jika dilihat berdasarkan pelarut, dihasilkan oleh pelarut etanol. etanol merupakan pelarut universal yang memiliki gugus polar (-OH) dan gugus nonpolar (-CH<sub>3</sub>) sehingga dapat melarutkan seluruh golongan metabolit sekunder baik bersifat polar dan nonpolar (Astarina *et al.*,2013).Kontak yang luas antara sampel uji dan pelarut akan memberikan kesempatan yang lebih besar dalam mengekstraksi senyawa aktif (Maulida dan Guntarti, 2015).



#### 4.2 Fitokimia Ekstrak Buah Mangrove *Cerriops decandra*

Analisis fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* dengan pelarut yang berbeda (N-heksan, etil asetat, dan metanol) menunjukkan kandungan fitokimia yang beragam. Kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, saponin dan tanin paling banyak ditemukan pada ekstrak tepungbuah mangrove *Cerriops decandra* dengan perlakuan pelarut non polar ke polar pada pelarut etanol. Metabolit sekunder dapat disekresikan atau diproduksi oleh organisme sebagai respon terhadap lingkungan yang tidak ideal (Parida dan Jha, 2010). Hasil uji fitokimia ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* dapat dilihat pada Tabel 7.

**Tabel 7.** Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Buah Mangrove *Cerriops decandra*

Jenis Uji	Polar ke Non-Polar				Non Polar - Polar	
	Etanol	Etil asetat	N-Heksan	N-Heksan	Etil Asat at	Etanol
Alkaloid	-	+	+	+	+	++
Flavonoid	-	-	+	-	+	++
Tanin	+	+	+	+	++	++
Terpenoid	+	+	+	+	++	+++
Saponin	++	++	+	+++	+++	+
Steroid	+	++	+	+	++	+++
<b>TOTAL</b>	5	7	6	7	9	13

Keterangan :

Tanda (+) : Terkandung senyawa target lemah

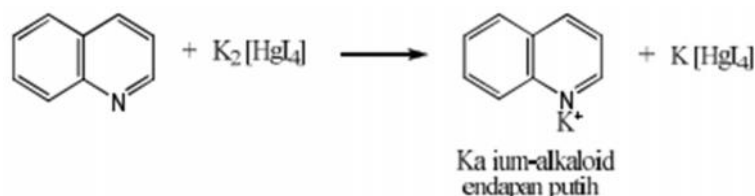
Tanda (++) : terkandung senyawa target sedang

Tanda (+++) : terkandung senyawa target kuat

Dari table 7 dapat dijelaskan bahwa hasil uji fitokimi buah mangrove *Cerriops decandra* dari perlakuan polar ke non polar positif mengandung alkaloid, flavonoid, tannin, terpenoid, saponin, dan steroid dengan senyawa target fitokimia lemah pada pelarut N-heksan hal ini dikarenakan proses penarikan senyawa dalam ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* tidak terjadi secara maksimal karena pola perlakuan dari polar ke non polar. Sedangkan pada perlakuan non

polar ke polar didapat hasil fitokimia dengan pelarut Etanol dapat menarik senyawa fitokimia pada buah Mangrove *Cerriops decandra* dengan kuat karena sifat pelarut Polar sehingga positif flavonoid, alkaloid, tannin, terpenoid, saponin, dan steroid.

Indikator positif dari uji alkaloid adalah dengan terbentuknya endapan merah atau jingga pada preaksi dragendroff, endapan putih kekuningan pada preaksi mayer dan endapan coklat pada preaksi wagner. Pada hasil pegujian alkaloid, senyawa alkaloid tidak terdapat pada ekstrak metanol daun segar. Proses perubahan warna pada uji alkaloid menurut Nafisah.etal, (2014), dikarenakan nitrogen pada senyawa alkaloid bereaksi dengan logam  $K^+$  dari kalium tetraiodomerkurat (II) yang membentuk kompleks kalium alkaloid yang mengendap. Persamaan reaksinya dapat dilihat pada Gambar 13.



**Gambar 13.** Persamaan Reaksi Uji Alkaloid dengan Pereaksi Mayer

Indikator positif dari uji flavonoid adalah dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol. Pada hasil pegujian flavonoid, senyawa flavonoid tidak terdapat pada ekstrak N-heksan dan etil asetat daun segar serta ekstrak N-heksan daun kering. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Harborne (1998), bahwa senyawa flavonoid merupakan senyawa yang larut dalam pelarut semi polar dan pelarut polar.

Indikator positif dari uji triterpenoid dan steroid adalah dengan

terbentuknya larutan berwarna merah untuk pertama kali pada reaksi positif triterpenoid dan selanjutnya terbentuknya larutan biru dan hijau untuk reaksi positif steroid. Pada pengujian triterpen dan steroid, ekstrak N-heksan daun segar tidak menunjukkan adanya senyawa triterpen maupun steroid. Untuk senyawa triterpen terdapat dalam ekstrak metanol daun segar, daun kering dan tepung daun. Sedangkan sampel-sampel yang lain positif mengandung senyawa steroid.

Umumnya triterpen, berdasarkan Sriwahyuni (2010), dapat larut dalam senyawa semi polar dikarenakan senyawa ini mempunyai gugus hidroksi (-OH). Steroid sendiri dalam tanaman dapat terbentuk sebagai glikosida (Harborne, 1998). Glikosida merupakan senyawa yang terdiri dari gula dan aglikon. Terdapatnya aglikon berupa steroid yang bersifat non polar mengakibatkan steroid lebih larut dalam pelarut non polar, sehingga steroid terdeteksi pada ekstrak etil asetat dan ekstrak N-heksana (Purwatresna, 2012).

Indikator positif dari uji saponin ini adalah terbentuknya busa yang tetap stabil setelah dilakukan penambahan 1 tetes HCl 2N. Pada hasil pengujian saponin, senyawa ini tidak ditemukan hanya pada ekstrak metanol daun segar. Hal ini tidak sesuai dengan pernyataan Sumarto *et al*, (2011), bahwa saponin merupakan jenis glikosida yang umum ditemukan pada tumbuhan yang memiliki karakteristik berupa buih, mudah larut dalam pelarut polar.

Indikator positif dari uji tanin adalah dengan terbentuknya larutan berwarna hijau kehitaman atau biru tinta. Pada pengujian tanin, senyawa ini hanya terdapat pada ekstrak metanol daun segar, ekstrak etil asetat daun kering dan ekstrak etil asetat tepung daun. Hal tersebut dikarenakan pada senyawa tanin terdapat gugus OH yang bersifat polar. Hal diatas sesuai dengan pernyataan Sriwahyuni (2010), pada senyawa tanin terdapat gugus OH sehingga menyebabkan sifatnya polar maka senyawa tanin dapat larut dalam pelarut polar.

Kesimpulan dari hasil uji fitokimia dan yield maka diperoleh hasil terbaik yaitu dari pola perlakuan Non polar ke Polar dengan pelarut yang mampu menghasilkan yield tertinggi yaitu pelarut etanol sedangkan untuk senyawa bioaktif yang terkandung dari pola non polar ke polar yaitu flavonoid, terpenoid, tanin, dan steroid. Sehingga untuk perlakuan Non polar ke polar dapat di lanjutkan ke penelitian utama.

#### 4.3 Kadar Air Ekstrak Buah Mangrove *Cerriops decandra*

Penentuan kadar air buah mangrove *cerriops decandra* menggunakan prinsip pengujian kadar air menurut BSN (2006), adalah dengan menghilangkan molekul air melalui proses pemanasan menggunakan oven vakum pada suhu 95°C-100°C dengan tekanan udara tidak lebih dari 100 mm Hg selama 5 jam atau oven non-vakum pada suhu 105°C selama 16 jam–24 jam. Penentuan berat air sendiri dihitung dengan metode gravimetri dimana berdasarkan selisih berat contoh sebelum dan sesudah contoh dikeringkan. Hasil pengujian kadar air buah mangrove *Cerriops decandra* dengan bentuk tepung dapat dilihat pada tabel 8.

**Tabel 8.** Kadar Air Tepung Buah Mangrove *Cerriops decandra*

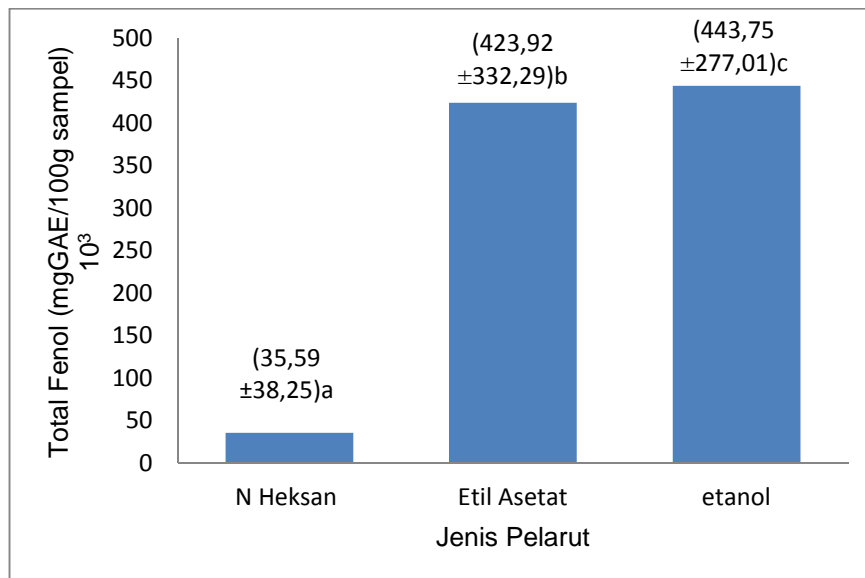
Pelarut	%Kadar air
N-Heksan	24.485±51,03
Etil Asetat	46.03±20,93
Etanol	69.21±28,3

Berdasarkan Tabel diatas sampel buah mangrove *Cerriops decandra* memiliki kadar air tertinggi dengan rata-rata sebesar 69,21% dengan pelarut Etanol. Sedangkan sampel buah mangrove *Cerriops decandra* memiliki kadar air terendah dengan rata-rata sebesar 24,48%. Hal tersebut diantaranya dipengaruhi oleh proses penepungan dan proses pengeringan yang diterapkan pada sampel. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hariyadi (2011), penurunan kadar air bahan berbanding lurus dengan peningkatan suhu pengeringan yang

disebabkan semakin tinggi suhu yang digunakan akan menyebabkan perambatan panas bahan semakin cepat sehingga air dalam bahan cepat menguap.

#### 4.3.1 Total Fenol Ekstrak Tepung Buah Mangrove *Cerriops decandra*

Kurva standar asam galat disiapkan dan perhitungan total fenol didasarkan pada standar tersebut dan menunjukkan sebagai ekuivalen asam galat (GAE) per gram bahan (Lampiran 6). Tiap ekstrak kemudian di baca pada spektrofotometri UV-VIS dengan panjang gelombang sebesar 760. Senyawa fenol atau senyawa fenolik merupakan salah satu senyawa yang termasuk dalam senyawa bioaktif. Senyawa fenol banyak terdapat dalam tumbuhan, juga pada rumput laut. Senyawa fenol, senyawa alkaloid, senyawa flavonoid merupakan senyawa yang dapat bersifat antioksidan. Rata-rata total fenol ekstrak tepung buah mangrove *Cerriops decandra* dapat dilihat pada Gambar 14.



**Gambar 14.** Rata-rata Total Fenol Ekstrak Tepung Buah Mangrove *Cerriops decandra*

Berdasarkan Gambar 14, kandungan fenolik ekstrak etanol tepung buah mangrove *Cerriops decandra* memiliki nilai tertinggi sebesar  $443,75 \pm 277,01$  mg GAE/100 g. Sedangkan kandungan fenolik ekstrak N-heksantepung buah mangrove *Cerriops decandra* memiliki nilai terendah dengan rata-rata  $35,59 \pm 38,25$  mg GAE/100 g. Hal diatas menunjukkan perbedaan yang cukup signifikan dari ketiga ekstrak yang diuji.

Tinggi rendahnya senyawa fenolik dalam sampel berhubungan dengan sifat senyawa fenol yang bersifat polar. Sehingga akan lebih mudah larut dalam pelarut semipolar dan polar. Sedangkan rendahnya senyawa fenolik sampel dikarenakan penggunaan pelarut non polar. Menurut Septiana dan Asnani (2012), menjelaskan bahwa senyawa fenolik atau senyawa polifenolik golongan flavonoid, turunan asam sinamat, tokoferol, kumarin, dan asam polifungsional dapat berfungsi sebagai senyawa antioksidan. Komponen fenolik mampu menghambat oksidasi lemak dengan menyumbang atom hidrogen pada radikal bebas.

Hasil uji total fenol dengan uji fitokimika buah mangrove *Cerriops decandra* didapat bahwa kandungan total fenol tertinggi yaitu pada pelarut Etanol yang bersifat polar sedangkan pada uji fitokimi kandungan fitokimia kuat terdapat pada pelarut etanol, maka dapat disimpulkan bahwa pengujian total fenol dan uji fitokimia berbanding lurus.

Tingginya senyawa fenolik pada pelarut etil asetat dikarenakan pelarut etil asetat mampu menarik senyawa non polar maupun senyawa semi polar dalam ekstrak. Sehingga pelarut metanol hanya bisa menarik sedikit senyawa polar ketimbang pelarut etil asetat. Penelitian Sa'adah (2010) mengungkapkan bahwa semakin banyak gugus hidroksil dalam senyawa fenol, maka tingkat kelarutan dalam air semakin besar. Selain itu penggunaan pelarut didasarkan

pada prinsip “*like dissolve like*” dengan artian suatu senyawa akan tertarik pada pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang sama.

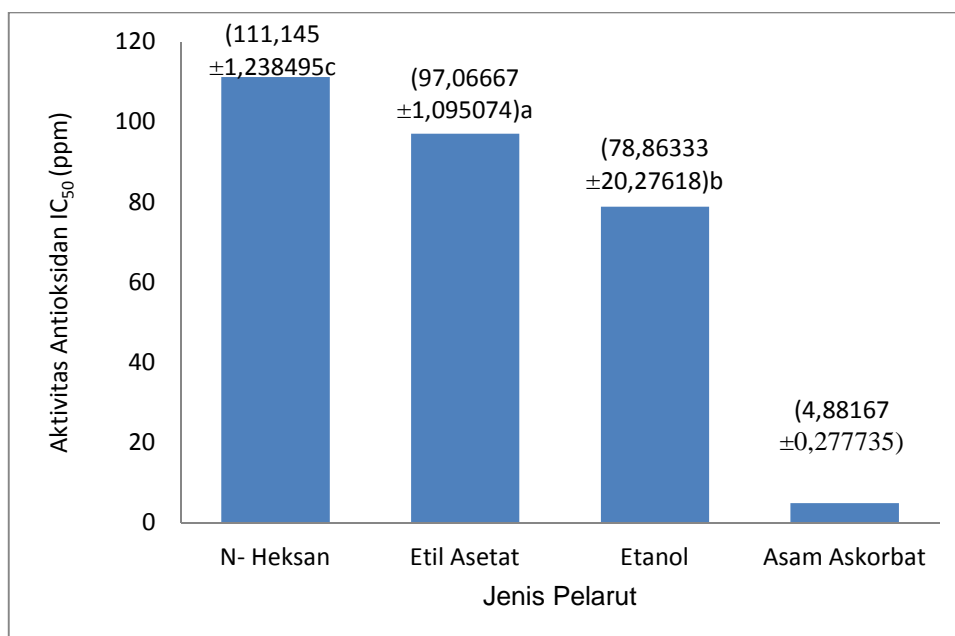
#### **4.4 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tepung Buah Mangrove *Cerriops decandra***

Senyawa antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat terjadinya oksidasi yang diakibatkan oleh adanya senyawa yang bersifat radikal. Sumber-sumber adanya senyawa antioksidan menurut Julyasih.*et al*, (2009), dikelompokkan menjadi dua yaitu antioksidan sentetik (antioksidan yang didapat dari hasil sintesis reaksi kimia) serta antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami). Senyawa antioksidan memiliki manfaat yang sangat besar bagi tubuh karena senyawa antioksidan mampu menghambat terjadinya reaksi oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas.

Pada pengujian aktivitas antioksidan senyawa DPPH ditangkap oleh senyawa antioksidan yang melepas radikal hidrogen sehingga membentuk DPPH-H tereduksi. DPPH yang menerima elektron atau radikal hidrogen akan membentuk diamagnetik yang stabil (Armala, 2009). Metode penangkal radikal bebas DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil yang dapat memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. DPPH ini larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol yang dapat diukur intensitasnya pada panjang gelombang 518 nm (Molyneux, 2004).

Adapun mekanisme dalam proses penghambatan aktivitas radikal bebas oleh DPPH yaitu terjadinya perubahan warna pada DPPH dimana DPPH yang pada awalnya berwarna ungu kemudian berubah warna menjadi warna kuning hingga kuning keunguan. Semakin besar konsentrasi sampel dalam uji aktivitas antioksidan yang digunakan, maka proses perubahan warna yang terjadi juga

akan sangat terlihat jelas yang ditandai dengan munculnya warna kuning. Ditambahkan oleh Syukur.*et al*, (2011), bahan atau senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui donasi proton yang menyebabkan perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning. Hasil uji antioksidan ekstrak tepung buah mangrove *Cerriops decandra* dapat dilihat pada Gambar 15.



**Gambar 15.** Hasil Uji Antioksidan Ekstrak Tepung Buah Mangrove *Cerriops decandra*

Berdasarkan hasil analisis regresi linier hubungan antara konsentrasi ekstrak tepung buah mangrove *Cerriops decandra* dengan pelarut berbeda dibandingkan persen peredaman absorban DPPH diperoleh persamaan regresi  $y=ax+b$ . Berdasarkan hasil yang diperoleh (Gambar 15) dari persamaan regresi linier kemudian dapat menentukan harga IC<sub>50</sub>. Dari hasil perhitungan diperoleh harga IC<sub>50</sub> sebesar ppm (Molyneux, 2004).

Dapat dilihat pada Gambar 15 bahwa nilai IC<sub>50</sub> terendah diperoleh pelarut etanol sebesar 78,86333 ± 20,27618ppm. Sedangkan nilai IC<sub>50</sub> tertinggi diperoleh pelarut N-heksan sebesar 111,145 ± 1,138149ppm. Dari penjelasan diatas dapat disimpulkan bahwa pelarut etanol dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar



78,86333  $\pm$  20,27618ppm memiliki aktivitas antioksidan kuat diantara ketiga pelarut yang digunakan. Tingginya aktivitas antioksidan pada pelarut etanol buah mangrove *Cerriops decandra* diduga karena pada ekstrak etanol buah mangrove *Cerriops decandra* terdapat senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai aktivitas antioksidan misalkan senyawa fenolik diantaranya flavonoid, tannin, alkaloid. Hal ini diakibatkan nilai IC<sub>50</sub> berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidan. Semakin kuat aktivitas antioksidan maka nilai IC<sub>50</sub> sampel makin rendah, begitu juga sebaliknya. Dijelaskan oleh Pramesti (2013), suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan kuat apabila nilai IC<sub>50</sub> sebesar 51-100 ppm, sedangkan antioksidan sedang apabila nilai IC<sub>50</sub> sebesar 101-150 ppm, dan antioksidan lemah apabila nilai IC<sub>50</sub> sebesar 151-200 ppm. Selain itu Putri dan Nurul (2015), menambahkan bahwa tinggi rendahnya aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya adalah sifatnya yang mudah rusak bila terpapar oksigen, cahaya, suhu tinggi, dan pengeringan.

Hubungan antara daya aktivitas antioksidan dengan asam askorbat menunjukkan bahwa nilai antioksidan tertinggi didapat pada pelarut Etanol hal tersebut dikarenakan pelarut etanol bersifat polar sehingga berbanding lurus dengan asam askorbat. Nilai antioksidan ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* tergolong antioksidan yang aktif karena nilainya berkisar 78,86333-111,145ppm.

#### **4.5 Hubungan Total Fenol dengan Aktivitas Antioksidan**

Senyawa fenol, senyawa alkaloid, senyawa flavonoid merupakan senyawa yang dapat bersifat antioksidan. Dengan kata lain makin tinggi total fenol ekstrak tepung buah mangrove *Cerriops decandra* makin tinggi pula aktivitas antioksidan dalam ekstrak tersebut. Hubungan total fenol dan IC<sub>50</sub> antioksidan ekstrak tepung buah mangrove *Cerriops decandra* dapat dilihat pada Tabel 8

**Tabel 9.** Hubungan Total Fenol dan IC<sub>50</sub> Antioksidan Ekstrak Tepung Buah Mangrove *Cerriops decandra*

Pelarut	Total Fenol (mg GAE/100 g)	IC <sub>50</sub> Antioksidan (ppm)
n-Neksan	697,7431 ± 23,56485	111,145 ± 1,238 <sup>a</sup>
Etil Asetat	801,5625 ± 22,,41641	97,066 ± 1,09 <sup>b</sup>
Etanol	890,7986 ± 19,77978	78,863± 20,276 <sup>c</sup>

Berdasarkan Tabel 8, dapat dilihat hubungan antara total fenol dan IC<sub>50</sub> antioksidan ekstrak tepung buah mangrove *Cerriops decandra*. Total fenol ekstrak tepung buah mangrove *Cerriops decandra* tertinggi didapat oleh pelarut etanol sebesar 890,7986 ± 19,77978g GAE/100 g dan total fenol terendah didapat oleh pelarut N--heksan sebesar 697,7431 ± 23,56485g GAE/100 g. Sedangkan untuk nilai IC<sub>50</sub> antioksidan ekstrak tepung buah mangrove *Cerriops decandra* tertinggi didapat oleh pelarut etanol sebesar 78,863± 20,276ppm dan nilai IC<sub>50</sub> terendah didapat oleh pelarut N-heksan 111,145 ± 1,238ppm.

Hal diatas menunjukkan bahwa total fenol dan aktivitas antioksidan ekstrak tepung buah mangrove *Cerriops decandra* memiliki hubungan yang terbalik. Yang dimaksudkan adalah, semakin tinggi nilai total fenol yang didapat maka semakin rendah pula nilai IC<sub>50</sub> (indikator aktivitas antioksidan). Hal ini menandakan total fenol memiliki korelasi positif dengan aktivitas antioksidan. Penjelasan diatas sesuai dengan pernyataan Jaya.*etal*, (2012), semakin banyak total fenolik pada suatu bahan, maka aktivitas penangkapan radikal bebas akan meningkat dan bahan tersebut memiliki senyawa bersifat antioksidan.

#### 4.6 Analisis Liquid Chromatograph Mass Spectrofotometry Buah Mangrove *Cerriops decandra*

Analisis *liquid chromatograph mass spectrofotometry* (LCMS) dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa dalam ekstrak yang diuji. Prinsip LC-MS dibagi kedalam empat langkah, yaitu pengenalan sampel, ionisasi molekul sampel untuk mengubah molekul netral kedalam bentuk ion dalam fase gas (metode ionisasi), pemisahan ion fase gas oleh *mass analyzer* dan pengidentifikasian ion-ion yang terpisah. Komponen penting dari *mass spectromometer* adalah sumber ion dan *mass analyzer* (Chenet *al.*, 2007). Hasil identifikasi kromatogram ekstrak etanol tepung buah mangrove *Cerriops decandra* dapat dilihat pada Tabel 10.

**Tabel 10.** Hasil Identifikasi Kromatogram Ekstrak Etil Asetat Tepung Buah Mangrove *Cerriops decandra*

Perlakuan	Waktu Retensi	Massa Senyawa	Dugaan Senyawa	Rumus Molekul
Ekstrak Etanol	2.38	146,03678 g/mol	Kumarin	$C_9H_6O_2$
	3.82	336,12358 g/mol	Berberin	$C_{20}H_{18}NO_4$

Berdasarkan Tabel10 diatas, ekstrak etanol tepung buah mangrove *Cerriops decandra* memiliki 2 puncak. Puncak-puncak dari 2 waktu retensi dapat Lampiran 5.Senyawa yang terdeteksi pada puncak pertama diduga sebagai senyawa kumarin yang muncul pada *retention time* 2,38 dengan berat molekul 146,03678 g/mol dan memiliki rumus  $C_9H_6O_2$ . Sedangkan senyawa yang terdeteksi pada puncak kedua diduga sebagai senyawa barberin yang muncul pada *retention time* 3,82 dengan berat molekul 336,12358 g/mol dan memiliki rumus  $C_{20}H_{18}NO_4$ .

Senyawa berberin dapat mengatur tingkat asam lemak bebas yang menjadi racun bagi pankreas dan menyebabkan resistensi insulin. Hasil ini menunjukkan bahwa berberin mungkin memainkan peran penting dalam

pengobatan diabetes tipe 2 (Gu *et al.*, 2010). Berdasarkan penelitian Jung *et al.*, (2009), senyawa berberin mungkin memiliki potensi melalui kapasitas antioksidan.

Berberin dapat menggantikan efek obat komersial. Hal tersebut dapat mengakibatkan penurunan toksisitas dan efek samping lainnya (Prabhakar dan Doble, 2009). Ketoksikan yang terjadi akibat kumarin diduga disebabkan metabolitnya yang toksik. Metabolit tersebut akan terikat secara kovalen dengan protein mikrosomal, menurunkan produksi glutathione untuk mendetoksifikasi senyawa xenobiotik dan menghasilkan nekrosis sentrilobular (Anzini *et al.*, 2014).

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 KESIMPULAN

Kesimpulan yang diperoleh dari hasil penelitian Daya Antioksidan Ekstrak Tepung Buah Mangrove *Cerriops decandra* dengan menggunakan Variasi Pelarut Berbeda adalah sebagai berikut :

- Senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak tepung buah mangrove *Cerriops decandra* perlakuan pelarut N-Heksan positif (saponin dan steroid) pelarut etil asetat positif (tanin, terpenoid dan saponin) sedangkan pelarut etanol positif (alkaloid, flavonoid, dan steroid).
- Aktivitas antioksidan ekstrak buah mangrove *Cerriops decandra* tertinggi yaitu dari perlakuan non polar ke polar dengan pelarut etanol yang tergolong dalam antioksidan kuat.
- Total fenol ekstrak tepung buah mangrove *Cerriops decandra* hasil tertinggi didapat oleh ekstrak etanol dengan pola perlakuan non – polar ke polar dengan nilai 801,562 GAE/100 g. Antioksidan ekstrak tepung buah mangrove *Cerriops decandra* dengan hasil tertinggi didapat oleh ekstrak etanol dengan pola perlakuan non – polar ke polar dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 78,863 ppm yang termasuk kedalam tingkat antioksidan kuat. Hasil LC-MS dari perlakuan terbaik ekstrak etanol ekstrak tepung buah mangrove *Cerriops decandra* Senyawa yang terdeteksi pada puncak pertama diduga sebagai senyawa kumarin yang muncul pada *retention time* 2,38 dengan berat molekul 146,03678 g/mol dan memiliki rumus  $C_9H_6O_2$ . Sedangkan senyawa yang terdeteksi pada puncak kedua diduga sebagai senyawa barberin yang muncul pada *retention time* 3,82 dengan berat molekul 336,12358 g/mol dan memiliki rumus  $C_{20}H_{18}NO_4$ .

## **5.2 SARAN**

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pemurnian ekstrak tepung buah mangrove *Cerriops decandra* yang memiliki potensi antioksidan dan total fenol sehingga dapat digunakan dalam bidang pangan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amrun, M. H., Umiyah., dan E. Umayah. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Air dan Ekstrak Metanol Beberapa Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Jember. *Berk. Penel. Hayati*: 45-50.
- Anaytullah, 2011. Skrining Panjang Gelombang Serapan Maksimum Tablet Kaptopril yang Dijual Pasar Pramuka dengan Spektrofotometer UV-Vis. Laporan Penelitian. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta. 44 hlm.
- Andaka, G. 2009. Optimasi Proses Ekstraksi Minyak Kacang Tanah dengan Pelarut N-Heksana. *Jurnal Teknologi* 2 (1): 80-82 Halaman.
- Arifianti, I., R.D. Oktarina., Kusumawati. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Kadar Sinensetin dalam Ekstrak Daun *Orthosiphon stamineus* Benth. *E journal Planta Husada* 2 (1): 1-4
- Azura, L. S dan R, Sutri. 2015. Pembuatan Asetat dari Hasil Hidrolisis, Fermentasi dan Esterifikasi Kulit Pisang Raja (*Musa paradisiaca* L.). *Jurnal Teknik Kimia USU* 4 (1): 1-6.
- Chasani, M., R. B. Fitriaji., Purwati. 2013. Fraksinasi Ekstrak Metanol Kulit Batang Ketapang (*Terminalia catappa* Linn.) dan Uji Toksisitasnya dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Molekul* 8 (1): 89-100.
- Darminto., Alimuddin., I. Dini. 2009. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Potensial Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophyla* dari Kulit Batang Tumbuhan *Aveccennia* spp. *Jurnal Chemica* 10 (2): 92-99.
- Erika, B. R., M. Dellima., R. Sulistyawati. 2014. Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas DPPH Oleh Fraksi N-heksan dan Fraksi Etil Asetat Daun Kelor (*Moringa oleifera*, Lamak). *Media Farmasi* 11 (1): 1-6.
- Ginting, M. K. 2012. Validasi Metode LC-MS/MS untuk Penentuan Senyawa Asam Trans-Mukonat, Asam Hippurat, Asam 2-Metil Hippurat, Asam 3-Metil Hippurat, Asam 4-Metil Hippurat dalam Urin sebagai Abiomarker Paparan Benzene Toluena, dan Xilena. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Indonesia. Depok. 82 hlm.
- Harborne JB. 1973. *Phytochemical Methods*. Chapman and Hall Ltd. Terjemahan Oleh Kokasih Padwawinta dan Iwang Soediro. 1987.
- Harborne JB. 1984. *Metode fitokimia*. Padmawinata K, Soediro I. Bandung: ITB Press. Terjemahan dari: *Phytochemical method* 2nd. (Hal.69-73; 102-104; 147-149; 184- 187; 271-274).
- Hill, J St. 2008. Sistematika *Pemphis acidula*. *Jurnal kimia* (Hal.11-12;26;31;50;)

- Ismarani. 2012. Potensi Senyawa Tannin dalam Menunjang Produksi Ramah Lingkungan. *Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah* 3 (2): 46-55.
- Isnindar., S, Wahyuono., E. P, Setyowati. 2011. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Daun Kesemek (*Diospyros kaki* Tuhnb.) dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl). *Majalah Obat Tradisional* 16 (3): 157-164.
- Istiani, Y. 2010. Karakterisasi Senyawa Bioaktif Isoflavon dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Tempe Berbahan Baku Koro Pedang (*Canavalia ensiformis*). Tesis. Universitas Sebelas Maret. Surakarta. 90 hlm.
- Jannah, M., A. Hanapi., A. G. Fasya. 2014. Uji Toksikitas dan Fitokimia Ekstrak Kasar Metanol, Kloroform dan N-heksan Alga Coklat *Sargassum vulgare* dari Pantai Kapong Pamekasan Madura. *Alchemy* 3 (2): 194-203.
- Kuncahyo, I dan Sunardi. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*, L.) Terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH). *Seminar Nasional Teknologi 2007 (SNT 2007)*. 1-9 Halaman.
- Manek. 2014. Pola Distribusi Spasial Jenis Santigi (*Pemphis acidula*) Dan Ancaman Kelestariannya di Kawasan Mangrove Alam Maubesi Kabupaten Tenggara Timur. UGM
- Martiningsih, N. W., I. N. Sukarta dan P. E. Yuniana. 2014. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Terong Ungu (*Solanum melongena* L.). *Jurnal Kimia* 8 (2): 145-152.
- Masuda, T., K. Iritani, S. Yonemori, Y. Oyama and Y. Takeda, 2001. Isolation and antioxidant activity of Galloyl Flavonol Glycosides from the seashore plants *Pemphis acidula*, Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 65(6): 1302-1309
- Maulida, D. dan N. Zulkarnaen. 2010. Ekstraksi Antioksidan (Likopen) dari Buah Tomat dengan Menggunakan Solven Campuran N-Heksana, Aseton, dan Etanol. Skripsi. 32 Halaman.
- Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable Free Radical DiPhenylPicrylHydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* **26** (2): 211-219.
- MSDS. 2013. Material Safety Data Sheet. <http://www.scincelab.com/msds.php?msdsid=9927165>. Diakses pada tanggal 14 februari 2016.
- Munawaroh, S dan P.A. Handayani. 2010. Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) Dengan Pelarut Etanol dan N – Heksana. *Jurnal Kompetensi Teknik* 2 (1): 73 – 78.



- Nafisah, M., Tukiran., Suyanto., N. Hidayati. 2014. Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Heksan, Kloroform, dan Metanol Dari Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbiae hirtae*). Prosding Seminar Nasional Kimia. Universitas Negeri Surabaya: halaman 279 – 286.
- Novia., H. Yuliyati, dan R. Yuliandhika. 2009. Pemanfaatan Biji Karet sebagai Semi Drying Oil dengan Metode Ekstraksi Menggunakan Pelarut N-Heksana. *Jurnal Teknik Kimia* **16** (4): 1-10 Halaman.
- Nuraini, A. D. 2007. Ekstraksi Komponen Antibakteri dan Antioksidan dari Biji Teratai (*Nymphaea pubescens* Willd). Skripsi. Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. 94 hlm.
- Nuryoto. 2008. Studi Kinerja Katalisator Lewatit Monoplus s-100 pada Reaksi Esterifikasi antara Etanol dan Asam Asetat. *Jurnal Rekayasa Proses* **2** (1): 24-27 Halaman.
- Pinnell S . 2003. Oxidative stress, and topical anti oxidant protection. *Journal*
- Prabawati, S. Y., A. F, Setiawan., A. F, Agustina. 2012. Sintesis Senyawa 1,4 Bis [(2-Hidroksi-3-Metoksi-5-Formaldehid-Fenil)-Metil] Piperazin dari Bahan Dasar Vanilin dan Uji Aktivitasnya sebagai Zat Antioksidan. *Kaunia VIII* (1): 30-43.
- Prakash, A., F. Rigelhof and E. Miller. 2001. *Antioxidant Activity. Medallion Laboratories Analytical Progress*. Minnesota.
- Pramesti, R. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Caulerpa serrulata* dengan Metode DPPH (1,1 difenil 2 pikrilhidrazil). *Buletin Osenografi Marina* **2**: 7-15.
- Putranti, R. I. 2013. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Sargassum duplicatum* dan *Turbinaria ornata* dari Jepara. Tesis. 130 Halaman.
- Rastuti, U dan Purwati. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kalba (*Albizia falcataria*) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekundernya. *Molekul* **7** (1): 33-34.
- Redha, A. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. Abstrak. *Jurnal Belian* **9** (2): 196-202 Halaman.
- Rija'i, H. R., L. Syafnir., E. Rismawati. 2015. Uji Aktifitas Antioksidan Ekstrak Bertingkat Daun Sirih Hitam (*Piper acre* Blume.) dengan Perendaman Radikal Bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikril hidrazil). Prosding Penelitian SPESIA 2015. Proding Farmasi FMIPA. Universitas Islam Bandung: hlm 58-64.
- Rohmatussolihah. 2009. Antioksidan Penyelamat Sel-sel Tubuh Manusia. *Bio Trends* **4** (1): 5-9.

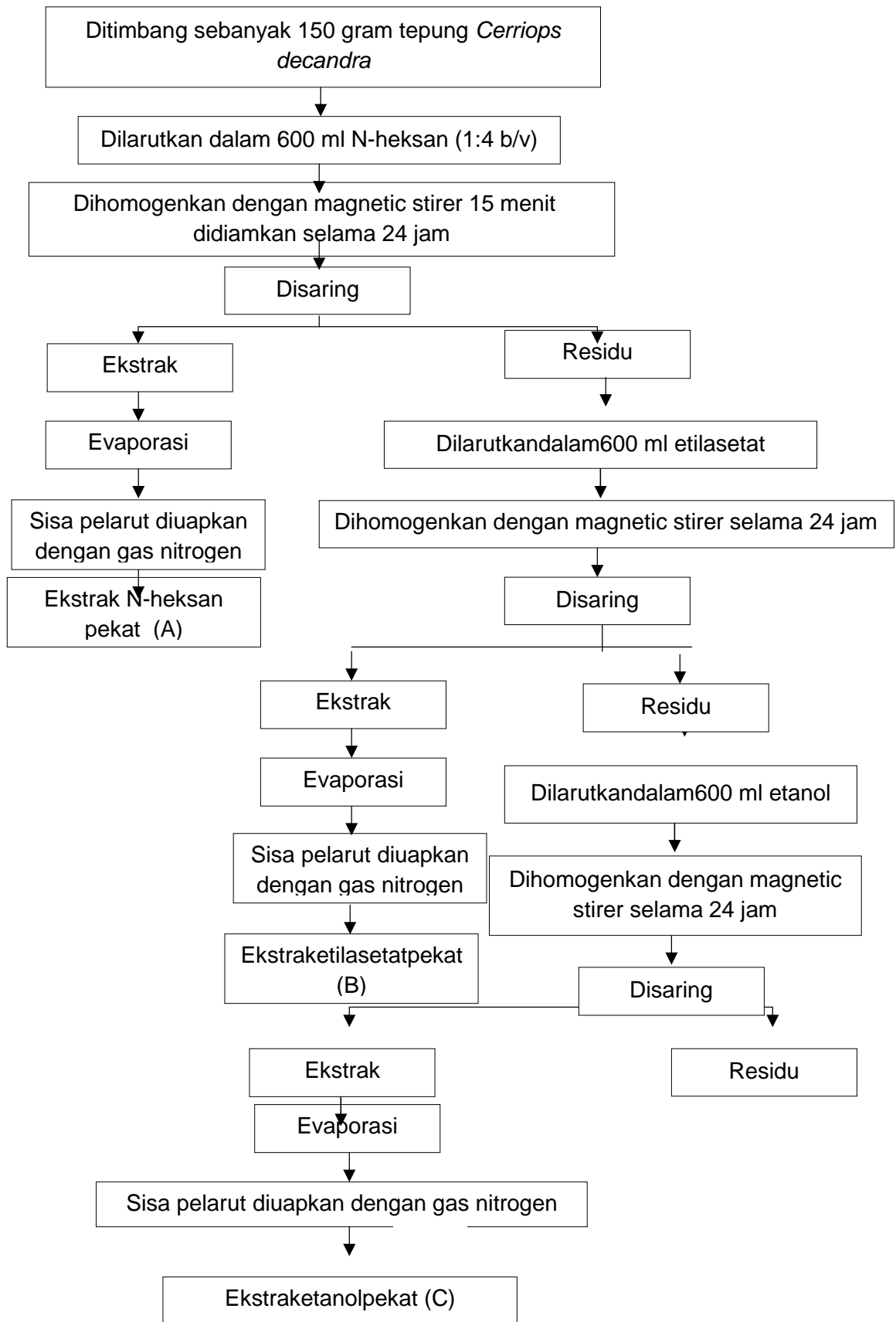
- Rosida, J. 2002. Uji Saponin dalam Lidah Buaya, Limbah Buah Mengkudu dan Daun Mimba. Temu TeknisFungsional Non Penelitian: 70-76.
- Ryzki, A. 2013. *Dasar-dasar Farmakognosi Edisi V*. Kanisius.Yogyakarta.
- Sangi, M., M. R. J. Runtuwene ., H. E.I. Simbala., V. M. A. Makang. 2008. Analisa Fitokimia Tumbuhan Obat Di Kabupaten Minahasa Utara. *Chem Porg* 1 (1) : 47 – 53.
- Sarastani, D., S. T. Soekarto., T. R. Muchtadi., D. Fardiaz., dan A. Apriyanto. 2002. Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Biji Atung. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* XIII (2): 149-156.
- Septiana, A. T dan A. Asnani. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. *Agrointek* 6 (1): 22-28.
- Siregar, A. F., A. Sabdono, D. Pringgenies. 2012. Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*. *Journal of Marine Research*1 (2): 152-160.
- Syukur, R., G. Alam., Mufidah., A. Rahim., R. Tayeb. 2011. Aktivitas Antiradikal Bebas Beberapa Ekstrak Tanaman Familia Fabaceae. *JST Kesehatan* 1 (1): 61-67.
- Sudarmadji, S., B. Haryono., dan Suhardi. 1989. Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty Yogyakarta. Yogyakarta. 165 hlm.
- Suratmo. 2009. Potensi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai antioksidan. *Jurnal Penelitian* 205(1):1-5.
- Triwahyuni, E dan Yusrin. 2012. Penggunaan Metode Kompleksometri pada Penetapan Kadar Seng Sulfat dalam Campuran Seng Sulfat dengan Vitamin C. <http://jurnal.unimus.ac.id>: 335-345.
- Wariyah, C. 2010. Vitamin C Retention and Acceptability of Orange (*Citrus nobilis var microcarpa*) Juice During Storage in Refrigerator. *Jurnal Agri Sains* 1 (1): 50-55.
- Wetlands.2009. Internasional Indonesia mangrove
- Wibowo, P. D. K. 2013. Variasi Karaginan (*Eucheuma cottonii* Doty) pada Proses Pembuatan Bakso Daging Sapi dengan Bahan Pengawet Tanin dari Pisang Kluthuk. Skripsi. 57 Halaman.
- Widyastuti, N. 2010. Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode CUPRAC, DPPH, dan FRAP serta Korelasinya dengan Fenol dan Flavonoid pada Enam Tanaman. Skripsi. 23 Halaman.
- Widiyati , E. 2006. Penentuan Adanya Senyawa *Triterpenoid* dan Uji Aktivitas Biologis pada Beberapa Spesies Tanaman Obat Tradisional Masyarakat Pedesaan Bengkulu. *Jurnal Gradien* 2 (1): 116-122

- Wijaya, D. P., J. E. Paendong., J. Abidjulu. 2014. Skrining Fitokimia dan Uji Antioksidan dari Daun Nasi (*Phrynium capitatum*) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Jurnal MIPA UNSRAT Online* 3 (1): 11-15.
- Winarno FG. 2008. *Kimia Pangan dan Gizi*.: M-BRIO Press.Bogor
- Winarsi, H. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Kanisius. Yogyakarta. 244 hlm.
- Wiratmaja, I. Gede., I.G. Kusuma., I. N. Winaya. 2011. Pembuatan Etanol Generasi Kedua dengan Memanfaatkan Limbah Rumput Laut *Eucheuma cottonii* sebagai Bahan Baku. *Jurnal Ilmiah Mesin Cakram* 5 (1): 75-84.
- Wultur, C. A dan J. Schadu. 2013. Identifikasi Alkaloid pada Daun Sirsak (*Annona muricata* L.). Jurusan Farmasi. Halaman 54.
- Zheng X, Liu B, Li L, Zhu X. 2011. Microwave-assited extraction and antioxidant activity of total phenolic compounds from pomegranate peel. *Journal of Medicine Plants Research* 5(6):1004-1011.

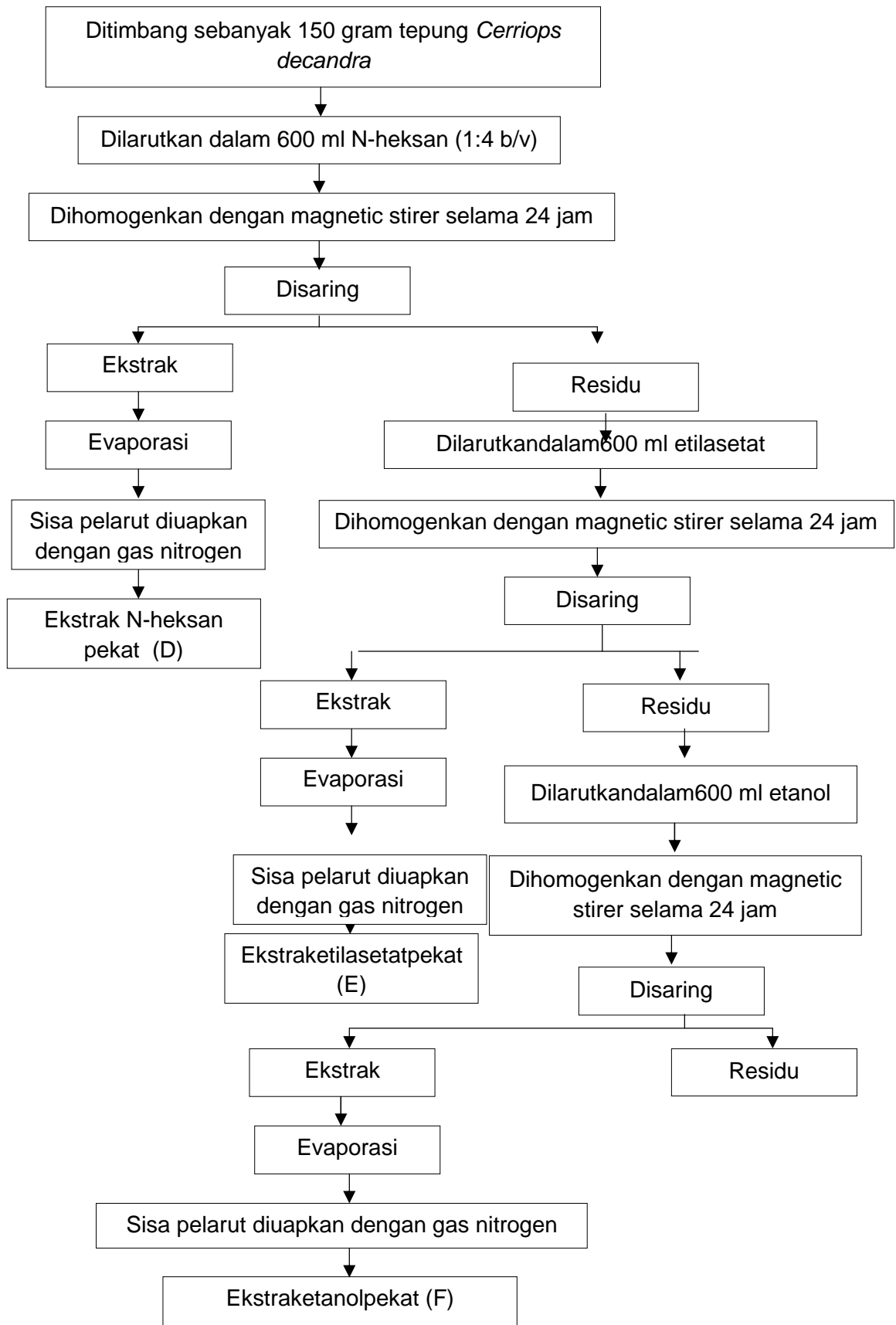
## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Skema Proses Ekstraksi (Masuda,2001)

#### a. Skema Proses Ekstraksi Sampel dari Pelarut Non Polar ke Polar

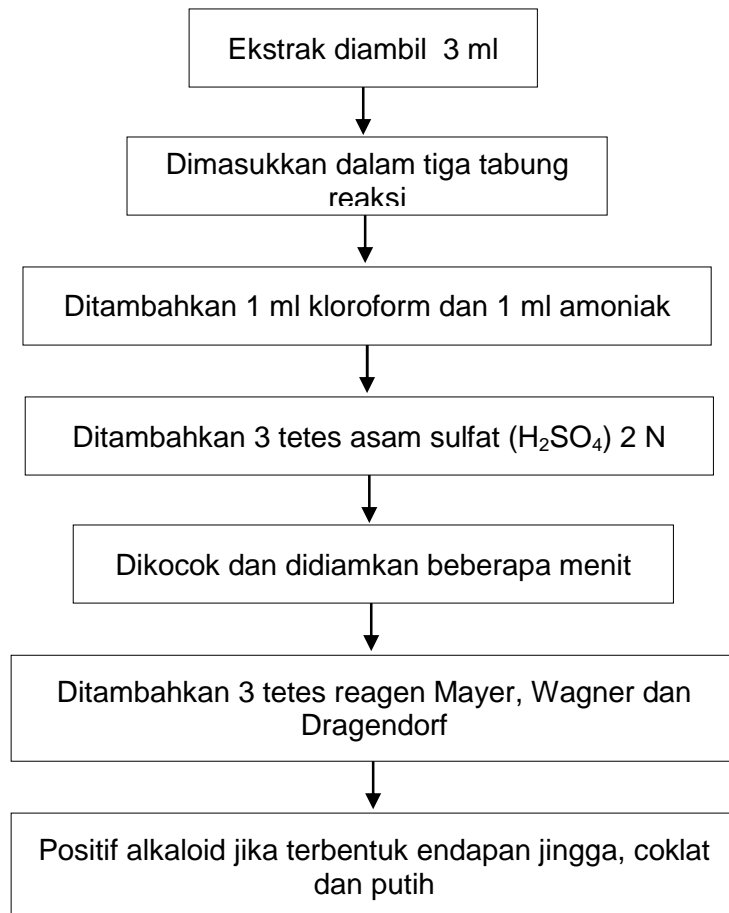


**b. Skema Proses Ekstraksi Sampel dari Pelarut Polar ke Non Polar**

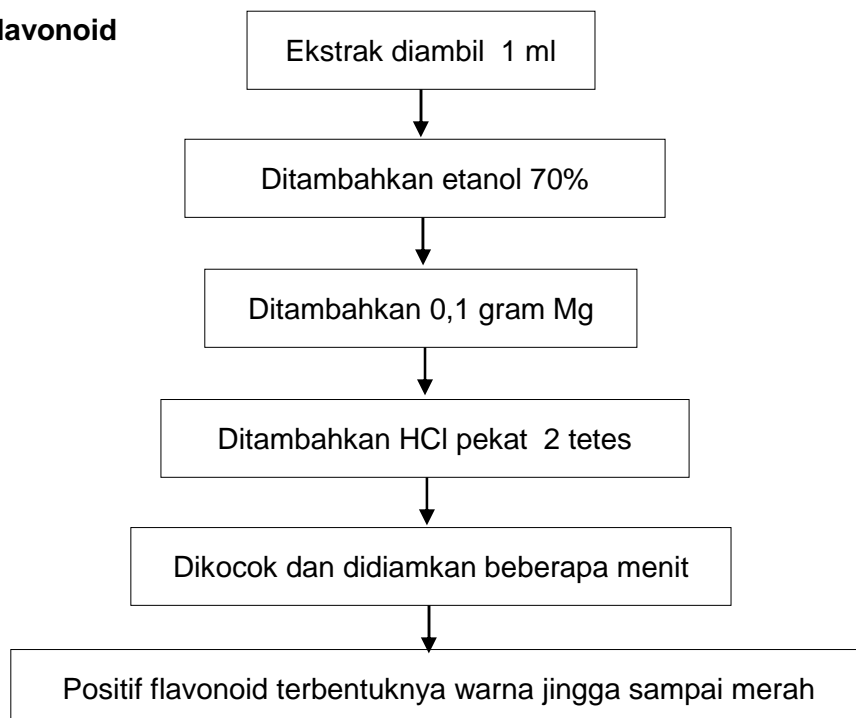


## Lampiran 2. Skrining Fitokimia (Harborne, 1987)

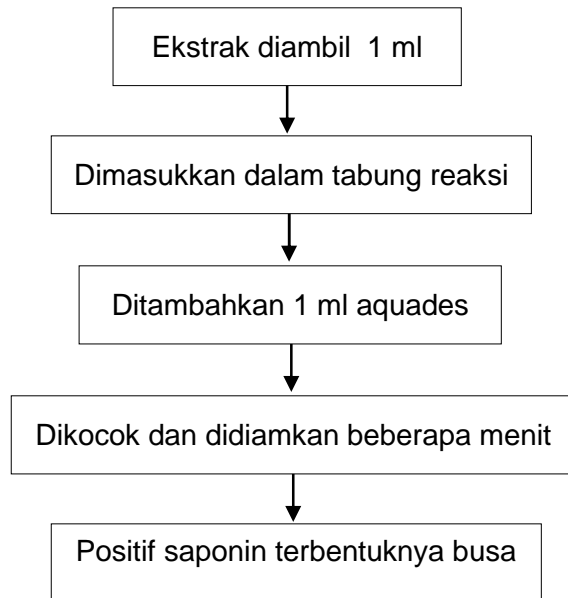
### a. Uji Alkaloid



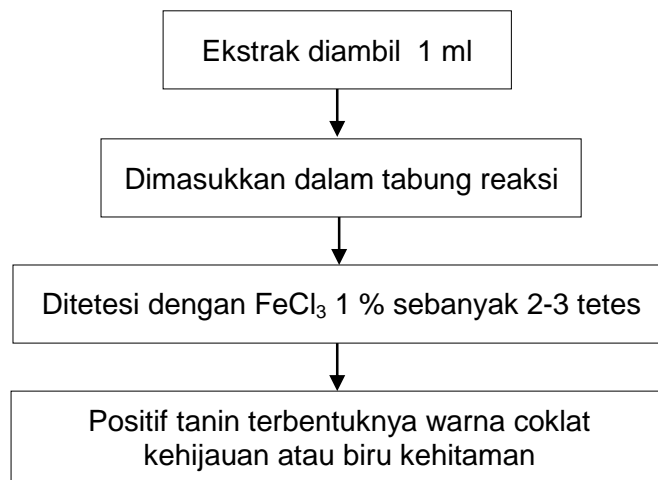
### b. Flavonoid



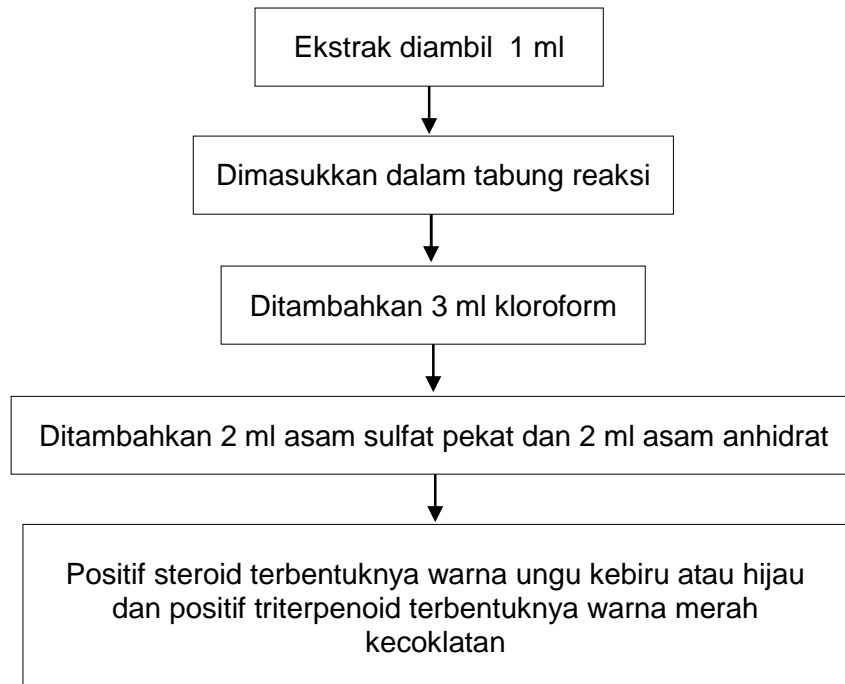
**c. Uji Saponin**



**d. Uji Tanin**

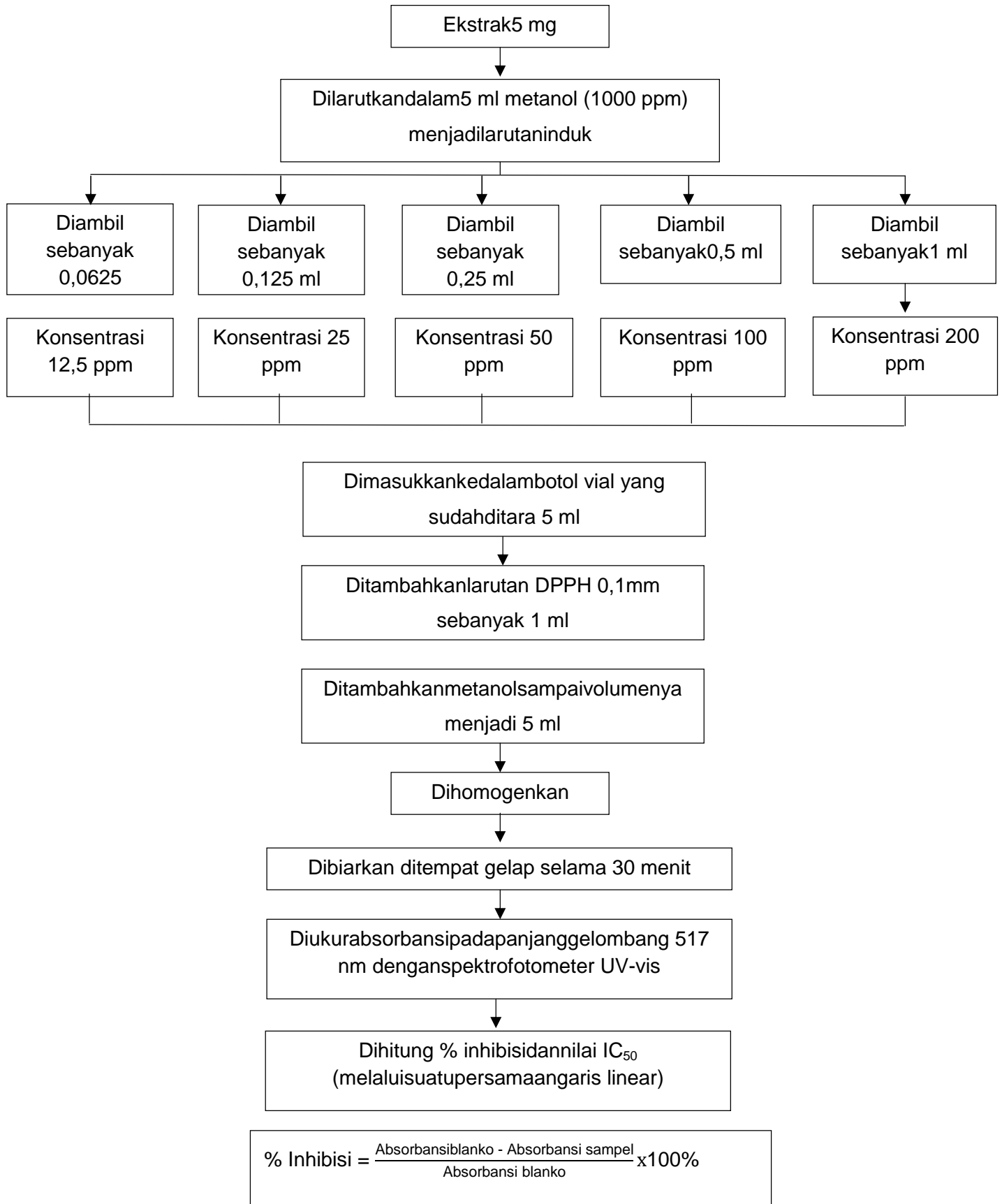


**e. Uji Triterpenoid (Steroid)**





**Lampiran 3. Skema Uji Aktivitas Antioksidan (Modifikasi Rohimat *et al.*, 2014 dengan Wikanta *et al.*, 2010)**



**Lampiran 4. Perhitungan Pembuatan larutan DPPH 0,1 mM, Konsentrasi Larutan Uji Aktivitas Antioksidan dan Konsentrasi Larutan Vitamin C**

➤ Perhitungan Pembuatan larutan DPPH 0,1 mM dalam 100 mL Metanol

Diketahui : Konsentrasi = 0,1 mM

Volume = 100 mL = 0,1 L

Mr DPPH ( $C_{15}H_{12}N_5O_6$ ) = 394,3 g/mol

Ditanya gram DPPH yang dibutuhkan?

$$M = \frac{\text{mol}}{\text{Volume (L)}}$$

$$0,1 \times 10^{-3} = \frac{\text{mol}}{0,1 \text{ L}}$$

$$0,00001 = \text{mol}$$

$$\text{mol} = \frac{g}{Mr}$$

$$0,00001 = \frac{g}{394,3}$$

$$0,003943 = g$$

$$3,943 = \text{mg}$$

➤ Perhitungan Konsentrasi Larutan Uji Aktivitas Antioksidan

- Perhitungan Pembuatan Larutan Induk Ekstrak Mangrove

$$1 \text{ ppm} = \frac{1 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}}$$

$$\frac{1000 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} = \frac{x}{5 \text{ mL}}$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{1000 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}}$$

$$X = \frac{1000 \times 5}{1000} = 5 \text{ mg}$$

Jadi, untuk membuat 1000 ppm larutan ekstrak dalam 5 mL metanol membutuhkan 5 mg ekstrak,

- Konsentrasi 12,5 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 5 \times 12,5$$

$$V_1 \times 1000 = 62,5$$

$$V_1 = \frac{62,5}{1000}$$

$$= 0,0625 \text{ mL} \times 1000 = 0,5 \text{ mL} \times 1000$$

$$= 6,25 \text{ } \mu\text{L}$$

- Konsentrasi 100 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 5 \times 100$$

$$V_1 \times 1000 = 500$$

$$V_1 = \frac{500}{1000}$$

$$= 0,5 \text{ mL} \times 1000$$

$$= 500 \text{ } \mu\text{L}$$

<ul style="list-style-type: none"> <li>Konsentrasi 25 ppm</li> </ul>	Konsentrasi 200 ppm
$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$ $V_1 \times 1000 = 5 \times 25$ $V_1 \times 1000 = 125$ $V_1 = \frac{125}{1000}$ $= 0,125\text{mL} \times 1000 = 125 \mu\text{L}$	$= V_2 \times M_2$ $V_1 \times 1000 = 5 \times 200$ $V_1 \times 1000 = 1000$ $V_1 = \frac{1000}{1000}$ $= 1\text{mL} \times 1000 = 1000 \mu\text{L}$

- Konsentrasi 50 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 5 \times 50$$

$$V_1 \times 1000 = 250$$

$$V_1 = \frac{250}{1000} = 0,25\text{mL} \times 1000 = 250 \mu\text{L}$$

➤ Perhitungan Konsentrasi Larutan Vitamin C

- Perhitungan Pembuatan Larutan Induk Vitamin C

$$\frac{1000 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} = \frac{x}{5 \text{ mL}}$$

$$X = \frac{1000 \times 5}{1000}$$

$$X = 5 \text{ mg}$$

Jadi, untuk membuat 1000 ppm larutan vitamin C dalam 5 mL Etanol membutuhkan 5 mg ekstrak,

<ul style="list-style-type: none"> <li>Konsentrasi 2 ppm</li> </ul>	Konsentrasi 16 ppm
$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$ $V_1 \times 1000 = 5 \times 2$ $V_1 \times 1000 = 10$ $V_1 = \frac{10}{1000}$ $= 0,01\text{mL} \times 1000$ $= 10 \mu\text{L}$	$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$ $V_1 \times 1000 = 5 \times 16$ $V_1 \times 1000 = 80$ $V_1 = \frac{80}{1000}$ $= 0,08 \text{ mL} \times 1000$ $= 80 \mu\text{L}$

- Konsentrasi 4 ppm

$$\begin{aligned}
 V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\
 V_1 \times 1000 &= 5 \times 4 \\
 V_1 \times 1000 &= 20 \\
 V_1 &= \frac{20}{1000} \\
 &= 0,02\text{mL} \times 1000 \\
 &= 20 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

Konsentrasi 32 ppm

$$\begin{aligned}
 V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\
 V_1 \times 1000 &= 5 \times 32 \\
 V_1 \times 1000 &= 160 \\
 V_1 &= \frac{160}{1000} \\
 &= 0,16\text{mL} \times 1000 \\
 &= 160 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

- Konsentrasi 8 ppm

$$\begin{aligned}
 V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\
 V_1 \times 1000 &= 5 \times 8 \\
 V_1 \times 1000 &= 40 \\
 V_1 &= \frac{40}{1000} \\
 &= 0,04\text{mL} \times 1000 \\
 &= 40 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

**Lampiran 5. Rancangan Penelitian, Data Hasil Perhitungan dan ANOVA (Analysis of Variance) Rendemen Ekstrak Buah Mangrove *Cerriops decandra***  
**Rancangan Penelitian, Data Hasil Perhitungan dan ANOVA (Analysis of Variance) Rendemen Ekstrak Buah Mangrove *Cerriops decandra***

- **Rancangan Penelitian Pengaruh Perbedaan Pelarut Ekstraksi dan Pola Pemberian Variasi Pelarut Non-Polar ke Polar dan Polar – ke Non Polar**

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
N-Heksan	NP (1)	NP (2)	NP (3)
EtilAsetat	NP (1)	NP (2)	NP (3)
Etanol	NP (1)	NP (2)	NP (3)
Etanol	DN (1)	DN (2)	DN (3)
EtilAsetat	DN (1)	DN (2)	DN (3)
N-Heksan	DN (1)	DN (2)	DN (3)

- **Data Hasil Rendemen Ekstrak Buah *Cerriops decandra***

Perlakuan	Pelarut	Ulangan	B. Awal	B. Akhir	Rendemen (%)	Mean	Std. Dev
PP	Etanol	1	150	58.787	0.392	0.360	0.023
		2	150	53.937	0.360		
		3	150	60.781	0.405		
	Etil Asetat	1	150	23.957	0.160	0.151	0.006
		2	150	24.563	0.164		
		3	150	22.723	0.151		
	N-Heksan	1	150	22.791	0.152	0.152	0.007
		2	150	24.813	0.165		
		3	150	23.179	0.155		
NP	N-Heksan	1	150	24.394	0.163	0.161	0.001
		2	150	24.573	0.164		
		3	150	24.132	0.161		
	Etil Asetat	1	150	28.949	0.193	0.191	0.002
		2	150	28.583	0.191		
		3	150	29.146	0.194		
	Etanol	1	150	120.902	0.806	0.805	0.001
		2	150	121.163	0.808		
		3	150	120.784	0.805		

### Contoh Perhitungan Rendemen

- N-Heksan 1:3

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen (U1)} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel yang diekstrak}} \times 100 \% \\ &= \frac{24,394 \text{ g}}{150 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 0,163\%\end{aligned}$$

### ➤ ANOVA (Analysis of Variance) Ekstrak Buah Mangrove *Cerriops decandra*

Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang dilakukan dengan uji F pada taraf kepercayaan 95%. Apabila nilai  $F_{hitung} >$  dari  $F_{tabel}$  maka dapat dilakukan uji lanjut, salah satunya dengan uji Tukey.

Source	Type III Sum of Squares (Jumlah Kuadrat)	df (Derajat Bebas)	Mean Square (Kuadrat Tengah)	$F_{hitung}$	$F_{tabel} (5\%)$	Sig.
1. Ulangan		2				
2. Corrected Model (perlakuan)	1.002	5	.200	1.896E3		.000
3. Intercept	1.735	1	1.735	1.642E3		.000
4. PERLAKUAN_A (variasi pelarut)	.734	2	.367	3.475E3		.000
5. PERLAKUAN_B (pola pemberian pelarut)	.161	2	.081	763.240		.000
6. PERLAKUAN_A * PERLAKUAN_B	.106	1	.106	1.003E3		.000
7. Galat						
8. Error	.001	12	.105			
9. Total	2.738	18				
10. Corrected Total	1.003	17				

Berdasarkan tabel di atas dapat diketahui bahwa nilai  $F_{hitung}$  dari interaksi A dan B lebih besar dari  $F_{tabel}$ . Ketika  $F_{hitung} (54,075) >$  dari  $F_{tabel} (3,01)$  maka interaksi antara perlakuan A dan B nyata.

## Uji Lanjut Tukey

### Randemen

Tukey HSD

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
n heksan	3	.15733			
etil pp	3	.15833			
n heksan np	3	.16267			
etil np	3		.19267		
etanol pp	3			.38567	
etanol np	3				.80633
Sig.		.986	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

### ➤ Kadar Air

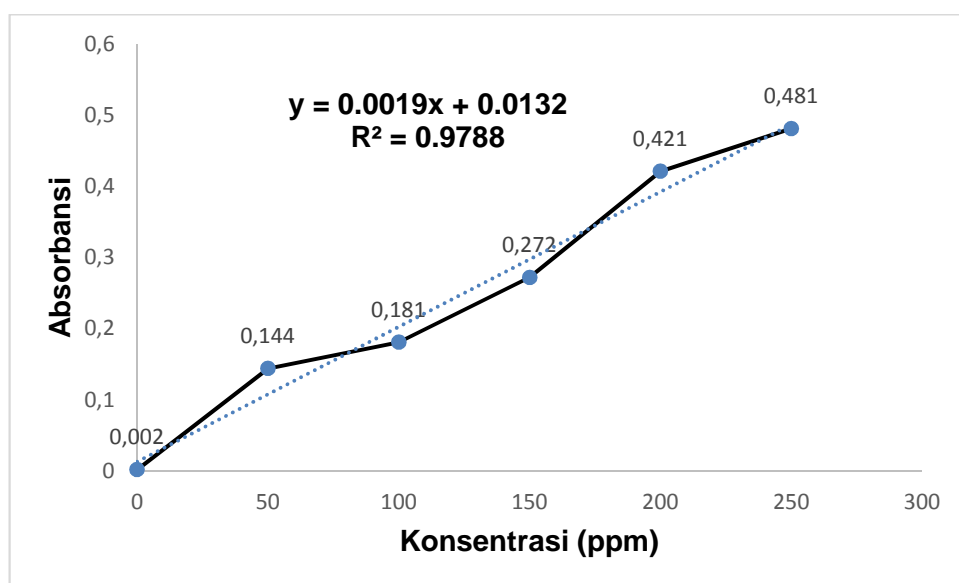
pelarut	ulangan	berat awal	berat ahir	berat kurs	%db	mean	std dev
N-heksan	1	24.394	18.726	8.278	54.24962	46.0373	20.93926
	2	24.573	19.538	8.371	45.08821		
	3	24.132	19.723	8.352	38.77407		
etil asetat	1	28.949	20.951	8.273	63.08566	69.21597	28.30781
	2	28.583	19.729	9.212	84.18751		
	3	29.146	21.316	8.347	60.37474		
etanol	1	120.902	100.912	9.549	21.87975	24.48514	51.03479
	2	121.163	98.721	8.618	24.90705		
	3	120.784	96.882	7.256	26.6686		

## Lampiran 6. Hasil Uji Larutan Standar Asam Galat Serta Kurva Kalibrasi Asam Galat

### ➤ Hasil Uji Larutan Standar Asam Galat

Konsentrasi	Absorbansi
0 ppm	0,002
50 ppm	0,144
100 ppm	0,181
150 ppm	0,272
200 ppm	0,421
250 ppm	0,481

### ➤ Kurva Kalibrasi Asam Galat





**Lampiran 7.** Data Hasil Perhitungan dan ANOVA (Analysis of Variance) Uji Total Fenol Ekstrak Buah Mangrove *Cerriops decandra*

➤ Data Hasil Perhitungan Uji Total Fenol Ekstrak Buah Mangrove *Cerriops decandra*

ulangan	sampel	absorbansi	konsentrasi kadar fenol (ppm atau µg/ml)	Total Fenol (µgGAE)	Total Fenol (mgGAE)	Total Fenol (mgGAE/100g)	mean
1	0.02	0.029	8.315	83.157	0.083	831.578	3559.649
2	0.02	0.033	10.421	104.210	0.104	1042.105	
3	0.02	0.039	13.578	135.789	0.135	1357.894	
4	0.02	0.042	15.157	151.578	0.151	1515.789	
5	0.02	0.14	66.736	667.368	0.667	6673.684	
6	0.02	0.202	99.368	993.684	0.993	9936.842	
1	0.02	0.812	420.421	4204.210	4.204	42042.105	42392.98
2	0.02	0.811	419.894	4198.947	4.198	41989.473	
3	0.02	0.817	423.052	4230.526	4.230	42305.263	
4	0.02	0.822	425.684	4256.842	4.256	42568.421	
5	0.02	0.826	427.789	4277.894	4.277	42778.947	
6	0.02	0.824	426.736	4267.368	4.267	42673.684	
1	0.02	1.883	984.105	9841.052	9.841	98410.526	44375.44
2	0.02	0.533	273.578	2735.789	2.735	27357.894	
3	0.02	0.519	266.210	2662.105	2.662	26621.052	
4	0.02	0.523	268.315	2683.157	2.683	26831.578	
5	0.02	0.863	447.263	4472.631	4.472	44726.315	
6	0.02	0.817	423.052	4230.526	4.230	42305.263	

Contoh Perhitungan Uji Total Fenol Ekstrak N-Heksan Buah Mangrove *Cerriops decandra* Ulangan 1

1. Konsentrasi kadar fenol

$$\begin{aligned} y &= 0,0019x + 0,0132 \\ 0,029 &= 0,0019x + 0,0132 \\ x &= \frac{0,029 - 0,0132}{0,0019} \\ x &= 8.315 \text{ ppm} (\mu\text{g/ml}) \end{aligned}$$

2. Kadar Ekuivalen asam galat

$$\begin{aligned} \text{Kadar ekuivalen} &= \text{konsentrasi kadar fenol} \times \text{jumlah total larutan uji} \\ &= 8.315 \mu\text{g/ml} \times 10 \text{ ml} \\ &= 83,15 \mu\text{gGAE} \\ &= 0,08315 \text{ mgGAE} \end{aligned}$$

3. Total Fenol

$$\begin{aligned} \frac{\text{Kadar ekuivalen}}{\text{berat sampel}} &= \frac{\text{total fenol}}{100 \text{ g}} \\ \frac{0,08315 \text{ mgGAE}}{0,01 \text{ g}} &= \frac{\text{total fenol}}{100 \text{ g}} \\ \text{Total fenol} &= \frac{0,08315 \text{ mgGAE} \times 100 \text{ g}}{0,01 \text{ g}} \\ &= 831.5789474 \text{ mgGAE/100g} \end{aligned}$$

➤ ANOVA (*Analysis of Variance*) Uji Total Fenol Ekstrak Buah Mangrove *Cerriops decandra*

Pelarut	Ulangan						Mean	Std. Dev
	1	2	3	4	5	6		
N Heksan	831.579	1042.11	1357.89	1515.79	6673.63	9936.84	3559.64	3825.465
Etil Asetat	42042.1	41989.5	42305.3	42568.4	42778.9	42673.7	42392.98	332.2983
Eetanol	98410.5	27357.9	26621.1	26831.6	44726.3	42305.3	44375.45	27701.25
Total								

Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang dilakukan dengan uji F pada taraf kepercayaan 95%. Apabila nilai  $F_{hitung} >$  dari  $F_{tabel}$  maka dapat dilakukan uji lanjut, salah satunya dengan uji BNT.

Perlakuan	Sum of Squares  (JK)	df	Mean Square	F <sub>hitung</sub>	F <sub>tabel</sub>	Sig.
<b>Between Groups</b>	6355778201	2	2118592733	8.126	3,682	.000
<b>Within Groups</b>	3910518895	15	260701259.7			
<b>Total</b>	10266297096	17				

Berdasarkan tabel di atas dapat diketahui bahwa nilai  $F_{hitung}$  (8,126) > dari  $F_{tabel}$  (3,682) yang artinya perbedaan pelarut ekstraksi memberikan pengaruh yang nyata terhadap hasil total fenol ekstrak.

$$\begin{aligned}
 \text{Nilai BNT} &= t_{(0,05; db \text{ galat})} \times \sqrt{\frac{2 \times KTG}{ulangan}} \\
 &= t_{(0,05; 15)} \times \sqrt{\frac{2 \times 260701259,7}{6}} \\
 &= 2,131 \times 2,2834 = 4,865
 \end{aligned}$$

Tabel notasi

Perlakuan	Mean	Notasi	Mean + Nilai BNT
<b>N-Heksan</b>	3559.64	A	3564,505
<b>Etil asetat</b>	42392,98	B	42397,84
<b>Etanol</b>	44375,44	C	44380,3

**Lampiran 8.** Data Hasil Perhitungan dan ANOVA (Analysis of Variance) Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Mangrove *Cerriops decandra*

➤ Data Hasil Perhitungan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah mangrove *Cerriops decandra* dan Vitamin C

- Ekstrak Etanol Buah Mangrove *Cerriops decandra*

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi					
		U1	U2	U3	U4	U5	U6
Ekstrak etanol	0	0,501	0,529	0,527	0,478	0,494	0,514
	12,5	0,451	0,455	0,452	0,408	0,431	0,452
	25	0,4	0,412	0,415	0,371	0,397	0,411
	50	0,252	0,254	0,254	0,229	0,231	0,253
	100	0,212	0,212	0,201	0,202	0,199	0,201
	200	0,123	0,128	0,11	0,108	0,104	0,108

✓ Ulangan 1

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regresi	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (ppm)
Ekstrak etanol	0	0,501	0	$y = 0,3651x + 12,381$	0,8247	103,04
	12,5	0,451	9,980			
	25	0,4	20,160			
	50	0,252	49,701			
	100	0,212	60,479			
	200	0,123	75,803			

✓ Ulangan 2

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regresi	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (ppm)
Ekstrak Etanol	0	0,529	0	$y = 0,3548x + 14,388$	0,813	100,37
	12,5	0,455	13,989			
	25	0,412	22,117			
	50	0,254	51,985			
	100	0,212	59,924			
	200	0,128	75,803			

✓ Ulangan 3

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regresi	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (ppm)
Ekstrak etanol	0	0,527	0	$y = 0,374x + 13,89$	0,8338	96,55
	12,5	0,452	14,231			
	25	0,415	21,252			
	50	0,254	51,803			
	100	0,201	61,860			
	200	0,11	79,127			

✓ Ulangan 4

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regresi	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (ppm)
Ekstrak etanol	0	0,478	0	$y = 0,3581x + 14,25$	0,0828	99,83
	12,5	0,408	14,644			
	25	0,371	22,385			
	50	0,229	52,092			
	100	0,202	57,741			
	200	0,108	77,406			

✓ Ulangan 5

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regresi	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (ppm)
Ekstrak etanol	0	0,494	0	$y = 0,3747x + 13,181$	0,8271	96,76
	12,5	0,431	12,753			
	25	0,397	19,636			
	50	0,231	53,239			
	100	0,199	59,717			
	200	0,104	78,947			

✓ Ulangan 6

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regresi	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (ppm)
Ekstrak etanol	0	0,514	0	$y = 0,3784x + 12,69$	0,8424	98,60
	12,5	0,452	12,062			
	25	0,411	20,039			
	50	0,253	50,778			
	100	0,201	60,895			
	200	0,108	78,988			

Contoh pengolahan data dengan analisa aktivitas antioksidan untuk ulangan 1 sampel ekstrak etanol dimulai dengan mencari %inhibisi yaitu dengan menggunakan rumus:

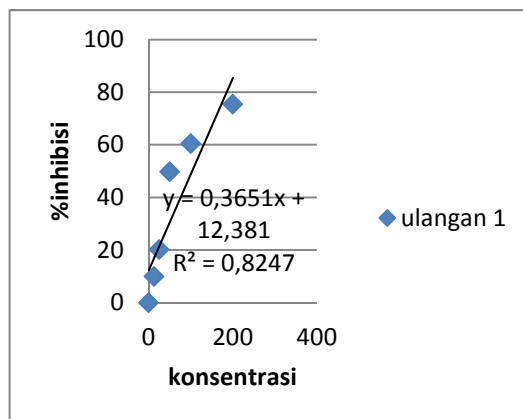
$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

A<sub>0</sub> = absorbansi kontrol (metanol + DPPH) tanpa ekstrak

A<sub>1</sub> = absorbansi sampel uji (Ekstrak + DPPH).

$$\begin{aligned}
 0 \text{ ppm} &= \frac{0,501 - 0,501}{0,501} \times 100\% = 0\% \\
 12,5 \text{ ppm} &= \frac{0,501 - 0,451}{0,501} \times 100\% = 9,980\% \\
 25 \text{ ppm} &= \frac{0,501 - 0,4}{0,501} \times 100\% = 20,160\% \\
 50 \text{ ppm} &= \frac{0,501 - 0,252}{0,501} \times 100\% = 49,701\% \\
 100 \text{ ppm} &= \frac{0,501 - 0,212}{0,501} \times 100\% = 60,479\% \\
 200 \text{ ppm} &= \frac{0,501 - 0,198}{0,501} \times 100\% = 75,896\%
 \end{aligned}$$

Konsentrasi sampel yang digunakan dalam penelitian dialurkan dengan hasil %inhibisi untuk membentuk suatu grafik sehingga menghasilkan persamaan regresi linier sebagai berikut:



Gambar. Grafik Regresi Aktivitas Antioksidan Sampel Ekstrak EtanolUlangan 1

Berdasarkan persamaan grafik diatas yaitu  $y = 0,3651x + 12,381$  dapat dihitung nilai  $IC_{50}$  sampel sebagai berikut :

$$Y = 0,3651x + 12,381$$

$$50 = 0,3631x + 12,381$$

$$50 - 12,381 = 0,3651x$$

$$X = 103,0375 \text{ ppm}$$

- Ekstrak Etil Asetat Buah Mangrove *Cerriops decandra*

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi					
		U1	U2	U3	U4	U5	U6
Ekstrak etil asetat	0	0,428	0,415	0,402	0,43	0,419	0,43
	12,5	0,365	0,392	0,369	0,389	0,401	0,381
	25	0,225	0,23	0,229	0,247	0,229	0,242
	50	0,22	0,21	0,203	0,218	0,303	0,223
	100	0,151	0,185	0,178	0,184	0,191	0,182
	200	0,025	0,029	0,04	0,036	0,022	0,045

✓ Ulangan 1

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regresi	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (ppm)
Ekstrak etil asetat	0	0,428	0	$y = 0,4137x + 18,218$	0,8388	37,89
	12,5	0,365	14,720			
	25	0,225	47,430			
	50	0,22	48,598			
	100	0,151	64,720			
	200	0,025	94,159			

✓ Ulangan 2

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regresi	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (ppm)
Ekstrak etil asetat	0	0,415	0	$y = 0,4171x + 14,389$	0,8283	85,38
	12,5	0,392	5,542			
	25	0,23	44,578			
	50	0,21	49,398			
	100	0,185	55,422			
	200	0,029	93,012			

✓ Ulangan 3

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regresi	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (ppm)
Ekstrak etil asetat	0	0,402	0	$y = 0,4004x + 15,224$	0,8306	86,85
	12,5	0,369	8,209			
	25	0,229	43,035			
	50	0,203	49,502			
	100	0,178	55,721			
	200	0,04	90,050			

✓ Ulangan 4

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regresi	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (ppm)
Ekstrak etil asetat	0	0,43	0	$y = 0,4082x + 15,342$	0,846	84,90
	12,5	0,389	9,535			
	25	0,247	42,558			
	50	0,218	49,302			
	100	0,184	57,209			
	200	0,036	91,628			

✓ Ulangan 5

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regresi	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (ppm)
Ekstrak etil asetat	0	0,419	0	$y = 0,4366x + 9,5534$	0,8644	92,64
	12,5	0,401	4,296			
	25	0,229	45,346			
	50	0,303	27,685			
	100	0,191	54,415			
	200	0,022	94,749			

✓ Ulangan 6

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regresi	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (ppm)
Ekstrak etil asetat	0	0,43	0	$y = 0,3943x + 16,279$	0,8374	85,52
	12,5	0,381	11,395			
	25	0,242	43,721			
	50	0,223	48,140			
	100	0,182	57,674			
	200	0,045	89,535			

Contoh pengolahan data dengan analisa aktivitas antioksidan untuk ulangan 1 sampel ekstrak etil asetat dimulai dengan mencari %inhibisi yaitu dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

A<sub>0</sub> = absorbansi kontrol (metanol + DPPH) tanpa ekstrak

A<sub>1</sub> = absorbansi sampel uji (Ekstrak + DPPH).

$$0 \text{ ppm} = \frac{0,428 - 0,428}{0,428} \times 100\% = 0\%$$



$$12,5 \text{ ppm} = \frac{0,428 - 0,365}{0,428} \times 100\% = 14,720\%$$

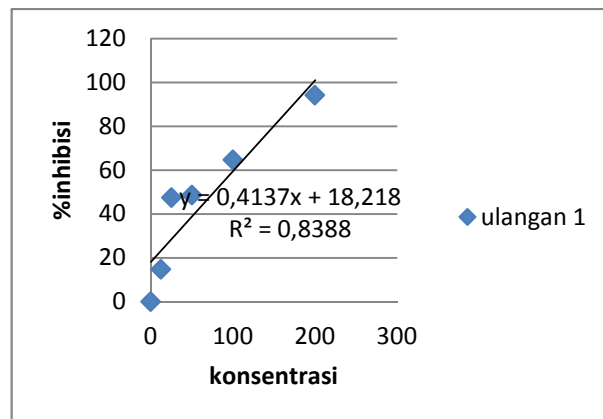
$$25 \text{ ppm} = \frac{0,428 - 0,225}{0,428} \times 100\% = 47,430\%$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{0,428 - 0,22}{0,428} \times 100\% = 48,598\%$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{0,428 - 0,151}{0,428} \times 100\% = 64,720\%$$

$$200 \text{ ppm} = \frac{0,428 - 0,025}{0,428} \times 100\% = 94,159\%$$

Konsentrasi sampel yang digunakan dalam penelitian dialurkan dengan hasil %inhibisi untuk membentuk suatu grafik sehingga menghasilkan persamaan regresi linier sebagai berikut:



Gambar. Grafik Regresi Aktivitas Antioksidan Sampel Ekstrak Etil Asetat Ulangan 1

Berdasarkan persamaan grafik diatas yaitu  $y = 0,4137x + 18,218$  dapat dihitung nilai  $IC_{50}$  sampel sebagai berikut :

$$y = 0,4137x + 18,218$$

$$50 = 0,4137x + 18,218$$

$$50 - 18,218 = 0,4137x$$

$$X = 37,89 \text{ ppm}$$

- Ekstrak N-Heksan Buah Mangrove *Cerriops decandra*

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi					
		U1	U2	U3	U4	U5	U6
Ekstrak N-Heksan	0	0,5	0,498	0,491	0,502	0,493	0,495
	12,5	0,417	0,429	0,424	0,431	0,424	0,428
	25	0,37	0,372	0,386	0,374	0,391	0,375
	50	0,302	0,291	0,29	0,315	0,287	0,305
	100	0,255	0,24	0,243	0,236	0,247	0,237
	200	0,125	0,124	0,118	0,132	0,114	0,131

✓ Ulangan 1

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regresi	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (ppm)
Ekstrak N-Heksan	0	0,5	0	$y = 0,3334x + 12,834$	0,9079	111,48
	12,5	0,417	16,600			
	25	0,37	26,000			
	50	0,302	39,600			
	100	0,255	49,000			
	200	0,125	75,000			

✓ Ulangan 2

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regresi	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (ppm)
Ekstrak N-Heksan	0	0,498	0	$y = 0,3424x + 12,49$	0,8957	109,55
	12,5	0,429	13,855			
	25	0,372	25,301			
	50	0,291	41,566			
	100	0,24	51,807			
	200	0,124	75,100			

✓ Ulangan 3

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regresi	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (ppm)
Ekstrak N-Heksan	0	0,491	0	$y = 0,3512x + 11,062$	0,9142	110,87
	12,5	0,424	13,646			
	25	0,386	21,385			
	50	0,29	40,937			
	100	0,243	50,509			
	200	0,118	75,967			

✓ Ulangan 4

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regresi	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (ppm)
	0	0,502	0			
<b>Ekstrak N-Heksan</b>	12,5	0,431	14,143	$y = 0,3386x + 12,06$	0,9076	112,05
	25	0,374	25,498			
	50	0,315	37,251			
	100	0,236	52,988			
	200	0,132	73,705			

✓ Ulangan 5

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regresi	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (ppm)
	0	0,493	0			
<b>Ekstrak N-Heksan</b>	12,5	0,424	13,996	$y = 0,3546x + 10,971$	0,9147	110,06
	25	0,391	20,690			
	50	0,287	41,785			
	100	0,247	49,899			
	200	0,114	76,876			

✓ Ulangan 6

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regresi	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (ppm)
	0	0,495	0			
<b>Ekstrak N-Heksan</b>	12,5	0,428	13,535	$y = 0,339x + 11,74$	0,9072	112,86
	25	0,375	24,242			
	50	0,305	38,384			
	100	0,237	52,121			
	200	0,131	73,535			

Contoh pengolahan data dengan analisa aktivitas antioksidan untuk ulangan 1 sampel ekstrak N-Heksan dimulai dengan mencari %inhibisi yaitu dengan menggunakan rumus:

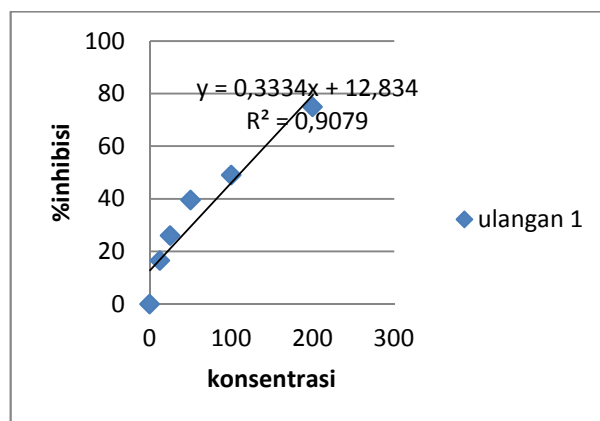
$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

A0 = absorbansi kontrol (metanol + DPPH) tanpa ekstrak

A1 = absorbansi sampel uji (Ekstrak + DPPH).

$$\begin{aligned}
 0 \text{ ppm} &= \frac{0,5 - 0,5}{0,5} \times 100\% = 0\% \\
 12,5 \text{ ppm} &= \frac{0,5 - 0,417}{0,5} \times 100\% = 16,600\% \\
 25 \text{ ppm} &= \frac{0,5 - 0,37}{0,5} \times 100\% = 26,000\% \\
 50 \text{ ppm} &= \frac{0,5 - 0,302}{0,5} \times 100\% = 39,600\% \\
 100 \text{ ppm} &= \frac{0,5 - 0,255}{0,5} \times 100\% = 49,000\% \\
 200 \text{ ppm} &= \frac{0,5 - 0,125}{0,5} \times 100\% = 75,000\%
 \end{aligned}$$

Konsentrasi sampel yang digunakan dalam penelitian dialurkan dengan hasil %inhibisi untuk membentuk suatu grafik sehingga menghasilkan persamaan regresi linier sebagai berikut:



Gambar. Grafik Regresi Aktivitas Antioksidan Sampel Ekstrak N-Heksan Ulangan 1

Berdasarkan persamaan grafik diatas yaitu  $y = 0,3334x + 12,834$  dapat dihitung nilai  $IC_{50}$  sampel sebagai berikut :

$$\begin{aligned}
 y &= 0,3334x + 12,834 \\
 50 &= 0,3334x + 12,834 \\
 50 - 12,834 &= 0,3334x \\
 X &= 111,48 \text{ ppm}
 \end{aligned}$$

- Asam Askorbat

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi					
		U1	U2	U3	U4	U5	U6
Asam askorbat	0	0,594	0,549	0,507	0,594	0,595	0,596
	12,5	0,538	0,523	0,421	0,538	0,539	0,54
	25	0,503	0,5	0,502	0,503	0,504	0,505
	50	0,372	0,472	0,504	0,372	0,373	0,374
	100	0,228	0,254	0,265	0,228	0,229	0,23
	200	0,123	0,141	0,164	0,123	0,124	0,125

✓ Ulangan 1

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regersi	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (ppm)
Asam askorbat	0	0,594	0	$y = 0,3991x + 8,0616$	0,9122	105,08
	12,5	0,538	9,428			
	25	0,503	15,320			
	50	0,372	37,374			
	100	0,228	61,616			
	200	0,123	79,293			

✓ Ulangan 2

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regersi	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (ppm)
Asam askorbat	0	0,549	0	$0,3951x + 0,4424$	0,9499	125,43
	12,5	0,523	4,736			
	25	0,5	8,925			
	50	0,472	14,026			
	100	0,254	53,734			
	200	0,141	74,317			

✓ Ulangan 3

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regersi	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (ppm)
Asam askorbat	0	0,507	0	$y = 0,3511x - 0,355$	0,8383	140,02
	12,5	0,421	16,963			
	25	0,502	0,986			
	50	0,504	0,592			
	100	0,265	47,732			
	200	0,164	67,653			

✓ Ulangan 4

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regersi	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (ppm)
<b>Asam askorbat</b>	0	0,594	0	$y = 0,3991x + 8,0616$	0,9122	105,08
	12,5	0,538	9,428			
	25	0,503	15,320			
	50	0,372	37,374			
	100	0,228	61,616			
	200	0,123	79,293			

✓ Ulangan 5

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regersi	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (ppm)
<b>Asam askorbat</b>	0	0,595	0	$y = 0,3985x + 8,048$	0,9122	105,27
	12,5	0,539	9,412			
	25	0,504	15,294			
	50	0,373	37,311			
	100	0,229	61,513			
	200	0,124	79,160			

✓ Ulangan 6

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regersi	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (ppm)
<b>Asam askorbat</b>	0	0,596	0	$y = 0,3978x + 8,0345$	0,9122	105,49
	12,5	0,54	9,396			
	25	0,505	15,268			
	50	0,374	37,248			
	100	0,23	61,409			
	200	0,125	79,027			

Contoh pengolahan data dengan analisa aktivitas antioksidan untuk ulangan 1 sampel asam askorbat dimulai dengan mencari %inhibisi yaitu dengan menggunakan rumus:

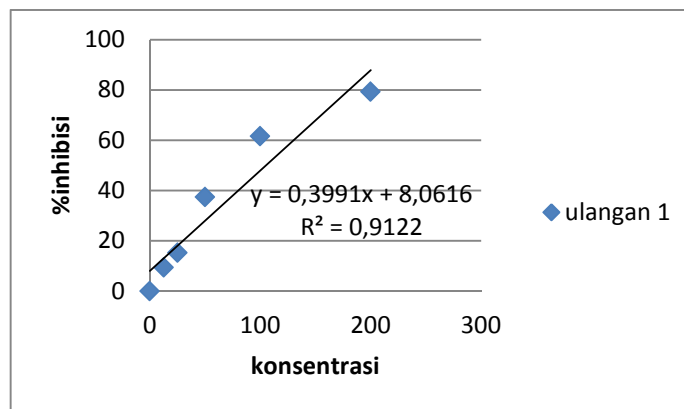
$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

A0 = absorbansi kontrol (metanol + DPPH) tanpa ekstrak

A1 = absorbansi sampel uji (Ekstrak + DPPH).

$$\begin{aligned}
0 \text{ ppm} &= \frac{0,594 - 0,594}{0,594} \times 100\% = 0\% \\
12,5 \text{ ppm} &= \frac{0,594 - 0,538}{0,595} \times 100\% = 105,08\% \\
25 \text{ ppm} &= \frac{0,594 - 0,503}{0,594} \times 100\% = 125,43\% \\
50 \text{ ppm} &= \frac{0,594 - 0,372}{0,594} \times 100\% = 140,02\% \\
100 \text{ ppm} &= \frac{0,594 - 0,228}{0,594} \times 100\% = 105,27\% \\
200 \text{ ppm} &= \frac{0,594 - 0,123}{0,594} \times 100\% = 105,49\%
\end{aligned}$$

konsentrasi sampel yang digunakan dalam penelitian dialurkan dengan hasil %inhibisi untuk membentuk suatu grafik sehingga menghasilkan persamaan regresi linier sebagai berikut:



Gambar. Grafik Regresi Aktivitas Antioksidan Sampel Asam Askorbat (Vitamin C) Ulangan 1

Berdasarkan persamaan grafik diatas yaitu  $y = 0,3991x + 8,0616$  dapat dihitung nilai  $IC_{50}$  sampel sebagai berikut :

$$\begin{aligned}
y &= 0,3991x + 8,0616 \\
50 &= 0,3991x + 8,0616 \\
50 - 8,0616 &= 0,3991x \\
X &= 105,08 \text{ ppm}
\end{aligned}$$

ANOVA (Analysis of Variance) Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Mangrove  
*Cerriops decandra*

Pelarut	Ulangan						Mean	Std. Dev
	1	2	3	4	5	6		
N Heksan	111,48	109,55	110,87	112,05	110,06	112,86	111,145	1,238495
Etil Asetat	97	95,28	96,96	97,95	96,76	98,45	97,06667	1,095074
Etanol	37,89	85,38	86,85	84,9	92,64	85,52	78,86333	20,27618

Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang dilakukandengan uji F pada taraf kepercayaan 95%. Apabila nilai  $F_{hitung} > F_{tabel}$  maka dapat dilakukan uji lanjut, salah satunya dengan uji BNT.

ANOVA

SK	DB	JK	KT	F Hitung	F Tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	2	3142,333633	1046,444544	7,581897792	3,68232	
Galat	15	2070,282217	138,0188144			
Total	17	5212,61585				

Berdasarkan tabel di atas dapat diketahui bahwa nilai  $F_{hitung}$  (7,581) > dari  $F_{tabel}$  (3,682) yang artinya perbedaan pelarut ekstraksi memberikan pengaruh yang nyata terhadap aktivitas antioksidan ekstrak.

$$\begin{aligned}
 \text{Nilai BNT} &= t_{(0,05;db \text{ galat})} \times \sqrt{\frac{2 \times KTG}{ulangan}} \\
 &= t_{(0,05;15)} \times \sqrt{\frac{2 \times 138,01}{6}} \\
 &= 2,131 \times 0,7416 = 6,78
 \end{aligned}$$

Tabel notasi

Perlakuan	Mean	Notasi	Mean + Nilai BNT
<b>N-Heksan</b>	111,145	A	117,925
<b>Etil Asetat</b>	97,06667	AB	103,846
<b>Etanol</b>	78,86333	BC	85,6433



## Lampiran 9. Hasil Identifikasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Etanol Buah Mangrove *Cerriops decandra*

LC MS –ESI pos ion

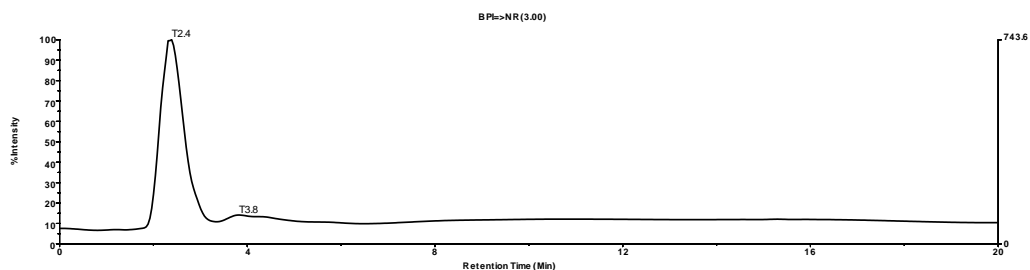
Vol injection 2 ul

Flow 0.05 ml/min

Collumn C-18 (15mm x 1 mm)

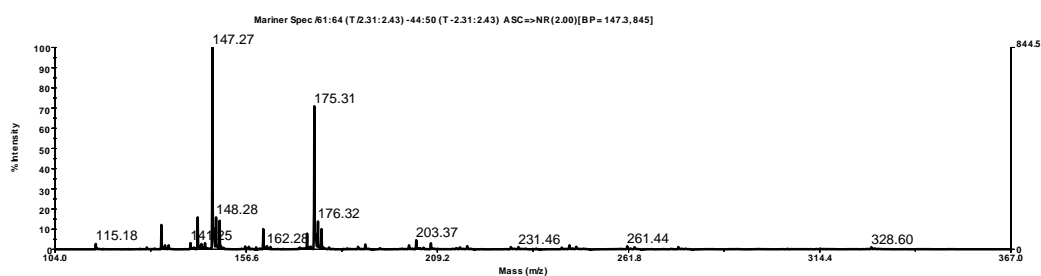
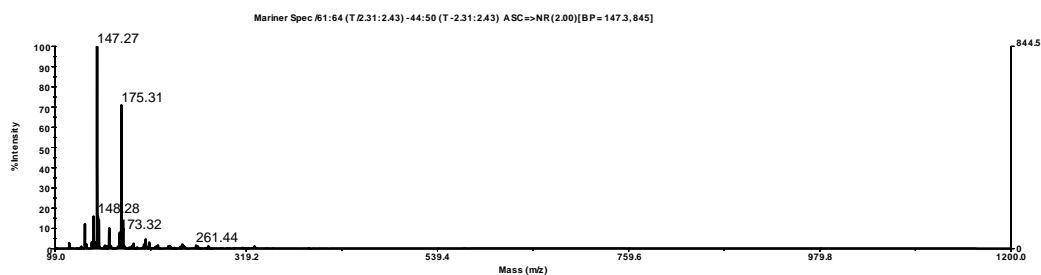
Eluent MeOH

- Ekstrak Etanol Tepung Buah Mangrove *Cerriops decandra*

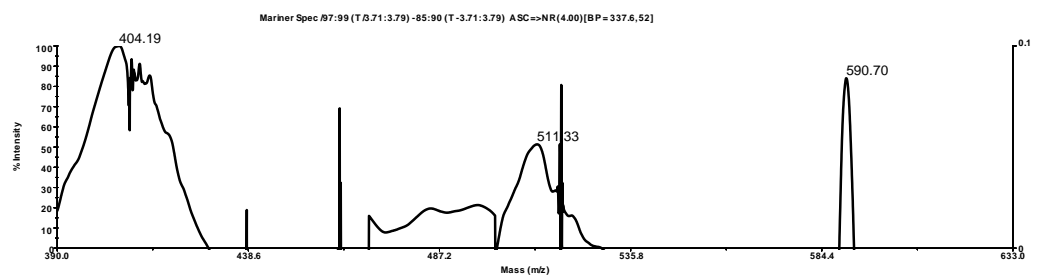
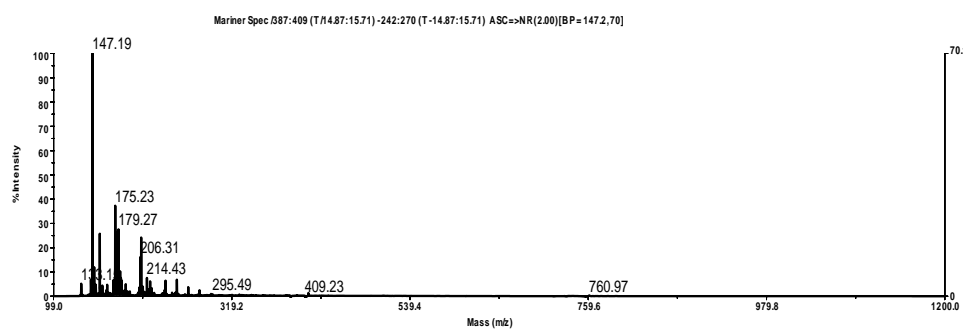
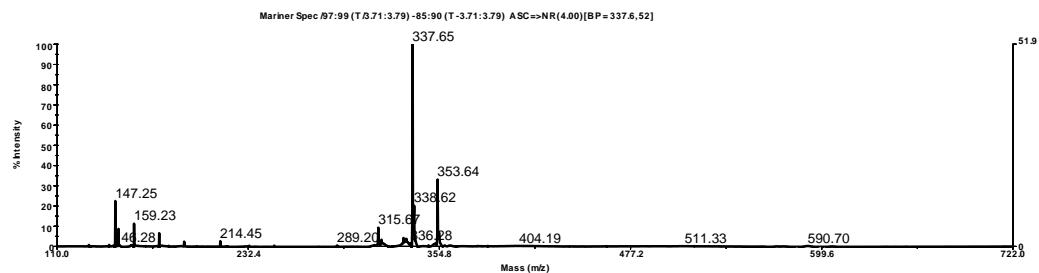
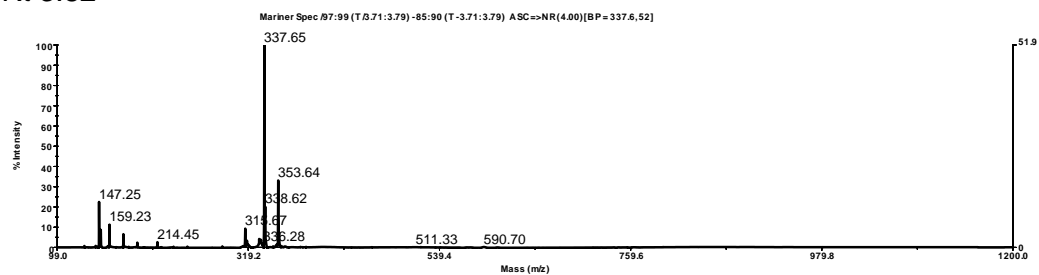


Index	Time	Lower Bound	Upper Bound	Height	Area
1	2.389767	1.462767	3.283217	744	10838.09
2	3.827500	3.400050	6.353467	105	1043.10

Rt 3.38

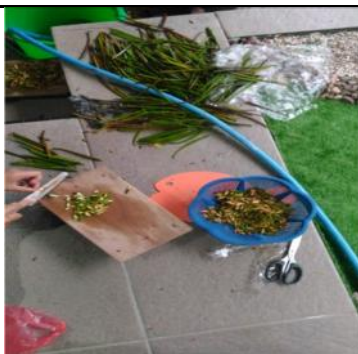


Rt 3.82



## Lampiran 10. Dokumentasi Penelitian

- Ekstraksi Sampel



1. Sampel Buah Mangrove *Cerriops decandra*



2. Sampel Kering Buah Mangrove *Cerriops decandra*



3. Sampel Tepung Buah Mangrove *Cerriops decandra*



4. Sampel Ditimbang



5. Sampel + Pelarut (1:4)



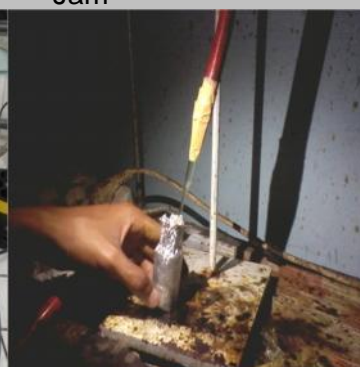
6. Maserasi Selama 24 Jam



7. Proses Penyaringan Sampel

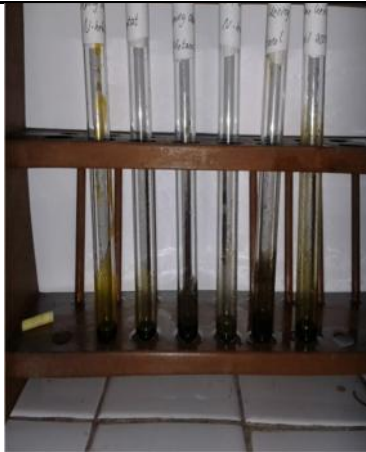


8. Evaporasi Sampel



9. Ekstrak Di Semprot Gas Nitrogen

- **Fitokimia Sampel dan Kadar Air Sampel**



1. **Uji Alkaloid**



2. **Uji Flavonoid**



3. **Uji Steroid dan Triterpenoid**



4. **Uji Tanin**



5. **Uji Saponin**



**Kadar Air Sampel**



- Uji Total Fenol



1. Menyiapkan Alat dan Bahan Uji



2. Sampel, Asam Galat Ditimbang



3. Sampel Diencerkan



4. Penambahan Reagen Folin dan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  pada Sampel juga Pada Larutan Standar Asam Galat. Ditunggu 1 Jam.



5. Pengukuran Absorbansi Sampel dan Standar dengan Spektrofotometer UV-Vis



6. Larutan Asam Galat yang Telah Diukur Absorbansinya



7. Sampel A yang Telah Diukur Absorbansinya



8. Sampel B yang Telah Diukur Absorbansinya



9. Sampel B yang Telah Diukur Absorbansinya

- **Uji Aktivitas Antioksidan**



**1. Menyiapkan Alat dan Bahan**



**2. Menimbang Sampel**



**3. Sampel Diencerkan**



**4. Larutan Sampel ditambahkan DPPH dan Kemudian Disimpan dalam Ruang Gelap Selama 30 menit**



**5. Diukur Absorbansi sampel dengan Spektrofotometer UV-Vis**



**6. Sampel yang Telah Diukur Absorbansinya**

- Uji Fitokimia

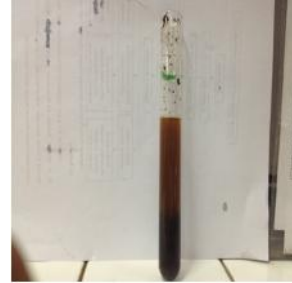
- Saponin



N-Heksan (+++) kuat



Etil Asetat (++) sedang



Etanol (+) Lemah

- Tanin



N-Heksan (+) Lemah



Etil Asetat (++) Sedang



Etanol (++) Sedang

➤ **Steroid**



↓  
N-Heksan (+) lemah

↓  
Etil Asetat (++)  
sedang

↓  
Etanol (+++) Sangat Kuat

➤ **Flafonoid**



↓  
N-Heksan (-)  
Tidak mengandung  
Senyawa

↓  
Etil Asetat (+)  
Lemah

↓  
Etanol (++)  
Sedang



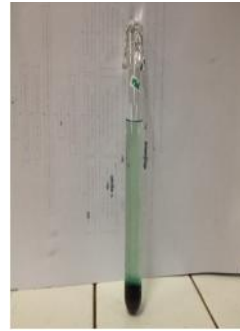
➤ **Alkaloid**



N-Heksan (+) lemah



Etil Asetat (+) lemah



Etanol (+) lemah